AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE

PUSA

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XX. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens**, Direktor der biologischen Anstalt zu Dahlem-Berlin, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XX. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 14 Tafeln und 32 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 1|3.

„Bacillus aterrimus tschitensis".

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medezin.]

Von Dr. **W. N. Klimenko**, St. Petersburg.

Während meines Aufenthalts in der Stadt Tschita zur Zeit des russisch-japanischen Krieges isolierte ich aus der Luft des klinischen Laboratoriums, dem ich vorstand, einen Bacillus, der ein braunschwarzes Pigment erzeugte.

Das weitere Studium dieses Bacillus erwies, daß er sich in mancher Hinsicht sowohl von dem von Biel (1) und Lunt (2) beschriebenen Bac. mesentericus niger (Bac. aterrimus Lehmann und Neumann (3), als auch von dem Bac. lactis Gorini (4) unterscheidet. Dieser Mikroorganismus ist ein Stäbchen mit abgerundeten Enden, seiner äußeren Erscheinung nach dem Bacillus mesentericus vulgaris sehr ähnlich. Er findet sich größtenteils einzeln, selten zu zweien, und bildet nur zuweilen Fäden.

Das untersuchte Stäbchen ist sehr beweglich und peritrich. Es bildet je eine Spore in jedem einzelnen Bacillenkörper. Die Spore befindet sich in der Mitte des Bacillenkörpers und hat eine ovale Form. Das Stäbchen wird von allen gewöhnlichen Anilinfarben leicht gefärbt; es ist nicht säurefest. Nach Gram nimmt es Färbung an. Metachromatische Körner (Babes-Ernstsche Körper) konnten nicht darin nachgewiesen werden. Ohne das Hinzutreten von Sauerstoff wächst es kaum. Sein Temperaturoptimum ist +36—40° C.

Kolonieen auf Agar sind schon nach 16—20 Stunden deutlich erkennbar. Um diese Zeit sind bei auffallendem Licht sowohl die tiefen als auch die oberflächlichen Kolonieen von weißer Farbe. Die letzteren sind außerdem glanzlos und zuweilen runzelig. Bei durchscheinendem Licht sind beide Arten von Kolonieen undurchsichtig. Ihre Form ist eine unregelmäßig rundliche. Der Durchschnitt der allergrößten Oberflächenkolonieen beträgt 3 mm. Unter dem Mikroskop gleichen die Kolonieen des beschriebenen Bacillus sehr denjenigen des Bac. mesentericus vulgaris. Nach 48 Stunden sind die tiefen Kolonieen bei durchscheinendem und die Oberflächenkolonieen bei auffallendem Licht von dunkelbrauner Farbe. Unter dem Mikroskop ist die Bildung beider Arten von Kolonieen dem Bau der entsprechenden Kolonieen des Bac. mesentericus vulgaris sehr ähnlich. Die Bildung von diffundierendem, dunkelbraunen Pigment um die Oberflächenkolonieen herum beginnt nicht vor dem 4. Tage.

Kolonieen auf Gelatine wurden nach 36 Stunden (bei +20° C) deutlich erkennbar. Alles, was hinsichtlich des Baues und der äußeren Erscheinung der Kolonieen auf Agar gesagt worden ist, bezieht sich, mit Ausnahme der Bildung von Pigment, auch auf die Gelatinekulturen. Die Verflüssigung der Gelatine um die Kolonieen herum beginnt am Ende des 3. Tages bemerkbar zu werden.

Im Gelatinestich wächst das untersuchte Stäbchen längs des ganzen Stichkanals in Gestalt eines grauweißen Streifens. Auf der Oberfläche der Gelatine bildet es einen zuweilen glatten, zuweilen etwas faltigen Belag von der Farbe des Stiches. Die Verflüssigung der Gelatine beginnt am 3. oder 4. Tage nach der Impfung, erst trichter-, dann cylinderförmig, in der ganzen Breite des Reagenzglases. Sie schreitet ziemlich langsam vorwärts. Die verflüssigte Gelatine ist anfangs trübe, nachher wird sie klar, weil die Trübung sich auf den Boden des Reagenzglases senkt. Auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine schwimmt ein Häutchen, welches mit der Zeit (nach 14—16 Tagen) eine braunschwarze Farbe annimmt. Um diese Zeit beginnt die Bildung von Pigment in den oberen Schichten der verflüssigten Gelatine. Die Bildung von Pigment ist immer sehr unbedeutend und beschränkt sich ausschließlich auf die oberen Schichten der verflüssigten Gelatine.

Auf geradem Agar ist das Wachstum stärker als auf gerader Gelatine. Das Stäbchen entwickelt sich längs des ganzen Stiches in Gestalt eines grauweißen Streifens und auf der Oberfläche des Agars in Gestalt eines glanzlosen faltigen Häutchens. Dieses Häutchen verwandelt sich im Laufe von 4—6 Tagen allmählich aus einem grauweißen in ein braunschwärzliches. Gleichzeitig bildet sich auch ein braunschwarzes Pigment, das in die ganze Dicke des Agars diffundiert. Die Diffusion des Pigments findet von oben nach unten hin statt. Die Farbe des Bakterienbelags ist immer heller als der Agar.

Auf schrägem Agar wächst das Stäbchen obenso wie auf der Oberfläche des geraden Agars. Auf dem Kondensationswasser bildet sich ein Häutchen; das Pigment diffundiert in das Kondensationswasser. Das Wachstum des untersuchten Stäbchens auf Agar mit 2 Proz. Traubenzucker und auf (5 Proz.) Glycerinagar unterscheidet sich in keiner Weise von seiner Entwickelung auf gewöhnlichem Agar. Die genannte Bakterie bildet weder auf Zucker- noch auf Glycerinagar Gas.

Auf Bouillon-Pepton wächst sie, indem sie eine allgemeine Trübung hervorruft und ein glanzloses, faltiges Häutchen bildet. In den ersten 3—4 Tagen ist das Häutchen von grauweißer Farbe. Vom 4.—5. Tage an beginnt es, an der Peripherie eine braunschwarze Farbe anzunehmen. Um dieselbe Zeit nimmt der Nährboden eine braunschwarze Farbe an. Die Färbung des Nährbodens ist immer bedeutend intensiver als die des Häutchens. Die Trübung des Nährbodens, die in den ersten Tagen des Wachstums der Kultur stattfindet, verschwindet allmählich; der Nährboden wird ganz durchsichtig. Auf dem Boden bildet sich ein unbedeutender Satz von braunschwarzer Farbe. Bouillon färbt sich niemals so stark wie Agar.

Auf Kartoffeln wächst das Stäbchen in den ersten Tagen in Gestalt eines trockenen, faltigen und nachher eines dicken, schmierigen, glänzenden Belags von der Farbe des Café au lait (Milchkaffees). Mit der Zeit wird der Belag nur in sehr seltenen Fällen braunschwarz. Der Belag entwickelt sich auch auf der Oberfläche des Wassers der Kartoffelreagenzgläser. Die Farbe der Kartoffeln selbst verändert sich niemals. Zu den Kartoffelnährböden verwendet man verschiedene Sorten von Kartoffeln.

Milch gerinnt anfangs unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit des genannten Stäbchens, nachher löst sich das Koagulum allmählich. Zuweilen wird die Milch erst 3—6 Tage nach der Impfung mit dem untersuchten Bacillus sauer. Einige Male beobachtete man eine schwache

Bildung von braunschwarzem Pigment auf der Oberfläche des Nährbodens an der Wand des Reagenzglases; die Bildung des Pigments beginnt nicht früher als am 14.—15. Tage nach der Infektion des Nährbodens.

Auf Petruschkys Nährboden wächst das Stäbchen, indem es ihn leicht trübt und auf der Oberfläche ein festes, runzeliges Häutchen bildet; die Reaktion des Nährbodens wird alkalisch. Nach 10—12 Tagen nimmt der Nährboden eine schwarzbraune Färbung an, welche sich dem Entwickelungsfortgang der Bakterie entsprechend verstärkt. 10—12 Tage lang ist das Häutchen von grauweißer Farbe, nachher wird es braunschwarz. Auf dem Boden des Reagenzglases bildet sich nach 12—15 Tagen ein dicker, runzeliger Satz von braunschwarzer Farbe, welcher seinem Aussehen nach an eine Morchel erinnert

Ameisensaures Natron (Omelianskis (5) Nährboden) zersetzt das untersuchte Stäbchen nicht. Seine Spaltung wurde nur durch die Bildung von Gas konstatiert, nicht durch das Auftreten der alkalischen Reaktion im Nährboden (Indikator Phenolphtalein). Auf dem genannten Nährboden wächst das Stäbchen genau ebenso wie auf gewöhnlichem Bouillon-Pepton.

Den nach Oldekops (6) Verfahren bereiteten Neutralrot-Agar verändert der untersuchte Bacillus auf folgende Weise: Nach 24—72 Stunden wird der obere Teil des Agars gelb mit grüner Fluoreszenz.

Auf schrägem 3-proz., mittels einer Kartoffelaufkochung in 5-proz. Glycerinwasser bereiteten Agar (Bordet und Gengou (7) wächst das beschriebene Stäbchen sehr gut in Gestalt eines glanzlosen, runzeligen Belags von weißgelblicher Farbe. Schwarzbraunes Pigment entwickelt sich schwach und nur in der Dicke des Bakterienbelags 23—25 Tage nach der Infektion des Nährbodens.

Auf geronnenem Blutserum wächst das Stäbchen gut, indem es darauf wie auf schrägem Agar ein Häutchen bildet. Auch auf diesem Nährboden entwickelt es ein braunschwarzes Pigment, das in die Dicke des Nährbodens diffundiert.

Auf dem Blutnährboden von Bordet und Gengou (7) wächst das beschriebene Stäbchen gut in Gestalt eines trockenen, runzeligen, schokoladefarbenen Häutchens. Der untersuchte Bacillus bildet SH_2.

Die Fähigkeit Pigment zu erzeugen unterliegt bei dem beschriebenen Bacillus großen Schwankungen. Die Bedingungen, die der Entwickelung von Pigment förderlich sind oder dieselbe verhindern, sind nicht untersucht worden. Uebrigens ist der Einfluß der Temperatur auf diese Fähigkeit der untersuchten Bakterie deutlich zu Tage getreten; eine Temperatur von 36—40^{0} war der Bildung von Pigment förderlich, während eine geringere Temperatur die Fähigkeit verminderte.

Der untersuchte Bacillus erzeugt augenscheinlich gar keine Krankheiten.

Drei Kaninchen im Gewicht von 1100 bis 1300 g wurden je 3 schräge, 2-tägige Kulturen des beschriebenen Bacillus in die Bauchhöhle injiziert, und keines von ihnen reagierte auf die Infektion.

Der Unterschied des untersuchten Bacillus von dem schwarzen Kartoffelbacillus von Biel (8) und Lunt (9) und dem Bacillus lactis niger Gorini (10) besteht in folgendem: 1) Der beschriebene Bacillus macht niemals die Kartoffeln selbst schwarz, während die zwei anderen Stäbchen die natürliche Farbe der Kartoffel, auf der sie wachsen, in eine schwarze verwandeln; 2) der untersuchte Mikroorganismus bildet

in geringer Menge Pigment auf Gelatine, während die zwei anderen Stäbchen es nicht tun; 3) die genannte Bakterie wächst längs des Stiches auf geradem Agar und gerader Gelatine, die beiden letzteren dagegen wachsen nur in den oberen Schichten; 4) das erste Stäbchen ist immerhin ein fakultativer Anaërobe, die zwei anderen sind reine Aëroben.

Folglich sieht man, daß die untersuchte Bakterie sich von den zwei oben genannten Stäbchen unterscheidet und als neuer Repräsentant der Gruppe des schwarzen Kartoffelbacillus erscheint.

Da Lehmann und Neumann (11) den schwarzen Kartoffelbacillus (Bac. mesentericus niger) in Bac. aterrimus umgetauft haben, so will ich den von mir beschriebenen Bacillus nach dem Orte, wo ich ihn gefunden, Bacillus aterrimus tschitensis nennen.

Literatur.[1]

1) Biel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 137—140.
2) Lunt, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 572—573.
3) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. (Lehmanns mediz. Handatlanten. Bd. X. Teil II. p. 366. 3. Aufl. 1904.)
4) Gorini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XX. p. 94.
5) Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 1 und Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. No. 22/23.
6) Oldekop, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 120.
7) Bordet et Gengou, Ann. de l'inst. Pasteur. T. XX. p. 734.
8) Biel, Op. cit.
9) Lunt, Op. cit.
10) Gorini, Op. cit.
11) Lehmann und Neumann, Op. cit.

Nachdruck verboten.

Ueber Abschwächung und Variabilität
bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf.

[Aus dem botanischen Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. Arthur Meyer).]

Von Ing. Chem. Dr. **Ludwik Garbowski.**

Mit 2 Tafeln und 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

Der Entwickelungsgang, die Morpologie und Physiologie stimmte im allgemeinen mit der Beschreibung von Gottheil überein. Es seien hier zum Vergleich nur die „Intensitätstabellen" beider Organismen, des von mir isolierten Bac. tumescens und des von Gottheil studierten (nach seiner eigenen Bestimmung) angeführt:

	0	I	I + M	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
B. tum. von mir isoliert	4	4	4	4	1	1	3	3	3	3	2	3	4	0	2	4	0
Bestimmung von Gottheil	4	4	4	4	1	1	4	4	3	2	2	2	3	0	1	3	0

Trotz der, wie man sieht, guten Uebereinstimmung beider Organismen wies die von mir isolierte Kultur von Bac. tumescens einige Eigentümlichkeiten, welche sich bei Gottheil nicht erwähnt finden,

auf, nämlich erstens — die Eigenschaft der „Nachkeimung“, welche die Sporen auf Dextroseagar in einer ganz auffallenden Weise zeigten, und zweitens — die Entwickelung von ähnlichen sekundären Kolonieen, wie sie bei Bac. luteus beschrieben wurden.

Die Auskeimung der Sporen von Bac. tumescens auf demselben Nährboden, auf welchem sie zur Entwickelung gekommen waren, sogenannte Nachkeimung, ist schon von Alfred Koch (1888) beobachtet worden. „Man sieht — bemerkt er — oft einige Sporen wieder auskeimen und zu mäßig langen Fäden heranwachsen“ (p. 316). Bei dem von mir isolierten Stamm war diese Eigenschaft in solchem Maße entwickelt, daß sämtliche Sporen nach dem Ausreifen auf Dextroseagar zur Auskeimung gelangten und einen zweiten Entwickelungsgang durchliefen.

Kaum wurden die ersten Sporen aus ihren Mutterzellenmembranen in Freiheit gesetzt, was bei 28° auf dem genannten Nährboden ungefähr nach 36 Stunden geschah, so konnte man einige von ihnen schon im Keimungszustande beobachten. Zu dieser Zeit waren noch viele primäre Sporangien in der Kultur vorhanden. In dem Maße, wie neue Sporen im Laufe der nächsten Tage ausgebildet werden, sieht man auch immer mehr auskeimende Individuen. Inzwischen werden die aus den ersten Sporen ausgewachsenen vegetativen Stäbchen zu einer zweiten Sporangiengeneration u. s. w. Da Keimungsbilder selbst nach 2—3 Monaten zu sehen sind, so folgt, daß auch die sekundären Sporen zum Auskeimen und vielleicht auch zur nochmaligen Fruktifikation gelangen können. Nicht selten sieht man, daß schon das erste Keimstäbchen der sekundär auskeimenden Spore, welches noch mit der Sporenmembran in Verbindung steht, zum Sporangium wird (Taf. II, Fig. 1). Einen kürzeren Entwickelungsgang eines sporenbildenden Bakteriums kann man sich nicht denken. Da Stäbchen im Teilungszustande nur selten in den älteren Kulturen zu sehen sind, dagegen Keimungsbilder und Sporangien immer vorkommen, so folgt daraus, daß die erwähnte Erscheinung der direkten Umwandlung des Keimstäbchens in Sporangium öfter stattfinden muß. Beobachten kann man sie nur dann, wenn die Sporenhaut länger am Keimstäbchen anhaftet. Die neue Spore füllt das Keimstäbchen zuweilen so vollständig aus, daß man den Eindruck erhalten könnte, es trete direkt eine neue Spore aus der alten Sporenhaut heraus [1]).

Die Folge dieser allgemeinen Nachkeimung der Sporen war eine allmähliche Abnahme ihrer Größe beim Aelterwerden der entsprechenden Kultur.

Die folgende tabellarische Zusammenstellung der Sporengröße von Bac. tumescens auf Dextroseagar in einer 40 Stunden (I), 3 Wochen (II) und 3 Monate alten (III) Kultur illustriert den Verlauf dieser Erscheinung am besten.

(Siehe Tabelle p. 6.)

Das den angeführten 3 Zahlenreihen entsprechende Kurvendiagramm stellt folgende Figur (p. 6) dar:

---

1) Sekundär auskeimende Sporen habe ich auch in reifen Kulturen von Bac. luteus und von Bac. asterosporus — bei der letzteren Species auch direkt mit Sporangien keimende — beobachtet.

kampfe mit ihren Nachbarn unterlagen und allmählich ausgesogen werden (Taf. II, Fig. 3).

Entwickelung von Bac. tumescens auf mineralischem Nähragar. Es wurden dieselben vier Nährmedien mit Salpeter, Ammoniumtartrat, Glycerin und Zucker in denselben Kombinationen wie bei Bac. luteus (p. 740. Bd. XIX) angewandt.

38 Stunden nach der Aussaat wurde die Anwesenheit von Sporangien in allen Proben festgestellt. Im Gegensatz zu Bac. luteus werden alle vier Nährmedien durch Bac. tumescens alkalisch gemacht. In der Entwickelung ließen sich folgende Unterschiede feststellen. Die Sporenbildung trat zuerst auf Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar ein, nach 48 Stunden bestand die Kultur zum größten Teil aus ausgereiften Sporen. Auf demselben Agar mit Rohrzucker, anstatt Glycerin, dauerte dagegen das vegetative Wachstum am längsten. Die ersten reifen Sporen treten hier erst nach 76 Stunden auf. Es trat hier auch eine ausgiebige Nachkeimung ein, so daß selbst am 12. Kulturtage nur wenige reife Sporen neben vielen leeren Sporenhäuten und absterbenden vegetativen Formen vorhanden waren. Auch auf Salpeter-Zucker-Agar unterlagen die Sporen einer ziemlich lebhaften Nachkeimung. Ganz frei von dieser Erscheinung erwies sich nur die Kultur auf Salpeter-Glycerin-Agar; auf Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar waren nur vereinzelte nachkeimende Individuen vorhanden.

Wahrscheinlich wird die Nachkeimung auf denjenigen Substraten auftreten, die besonders günstig für die Ernährung des Organismus sind; es wäre aber auch nach den Resultaten der Versuche möglich, daß dem Zucker und Ammoniak eine spezifische Wirkung für die Erzeugung der Nachkeimung zukäme. Für die erstere Annahme spricht die Erscheinung, daß bei größerer Verdünnung der sonst günstigen Nährstoffe ($^1/_3$ Agar) die Nachkeimung schwächer auftritt.

Die Bestimmung der Sporengröße wurde nur in den Glycerin enthaltenden Proben vorgenommen. Die Messung am 12. Entwickelungstage ergab:

Länge in μ	Individuenzahl	
	Salpeter-Glycerin	Ammoniumtartrat-Glycerin
0,4	2	—
0,6	5	—
0,8	23	—
1,0	19	5
1,2	42	11
1,4	7	30
1,6	2	29
1,8	—	17
2,0	—	1
2,2	—	2
2,4	—	4
2,6	—	1
	M = 1,11 μ	M = 1,53 μ

Die drei Kurven in folgender Figur stellen die Größenverhältnisse der Sporen von Bac. tumescens auf $^1/_3$ Dextroseagar (Sporen 2 Monate alt, p. 8), Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar und Salpeter-Glycerin-Agar (je 12 Tage alt) dar.

(Siehe Figur 4 p. 9.)

Das Maximum der Tötungszeit der 1 Monat alten Sporen von meinem Bac. tumescens auf Dextroseagar bei 100°, liegt, wie aus den folgenden Bestimmungen folgt, ungefähr zwischen 8 und 10 Minuten:

Versuch a	Versuch b
2' + + +	2' + + +
3' + — —	3' + + +
4' + + —	4' + + +
5' + — —	5' — — —
6' — — —	6' + — —
7' + — —	8' + — —
8' — — —	10' — — —
10' — — —	12' — — —

2. Einige diagnostische Merkmale von meinem Bac. tumescens.

Die Größe der primären Sporen auf Dextroseagar (nach 40 Stunden) schwankte bei dem von mir isolierten Bac. tumescens zwischen 1,6 μ und 2,8 μ; bei der Mehrzahl (96 Proz.) war sie 1,8—2,6 μ. Eine 3 Monate alte Kultur enthält Sporen von 0,8—2,0 μ Größe, meist (bei 92 Proz.) von 1,2—1,8 μ. Kurz nach seiner Iolierung auf Dextroseagar kultiviert, zeigte der Bacillus eine allgemeine Nachkeimung der Sporen, oft direkt mit Keimsporangien, was zu einer allmählichen Verkleinerung der Sporengröße der entsprechenden Kultur führte. Unabhängig von der Nachkeimung trat in den älteren Kulturen Entwickelung sekundärer vegetativer Kolonieen auf.

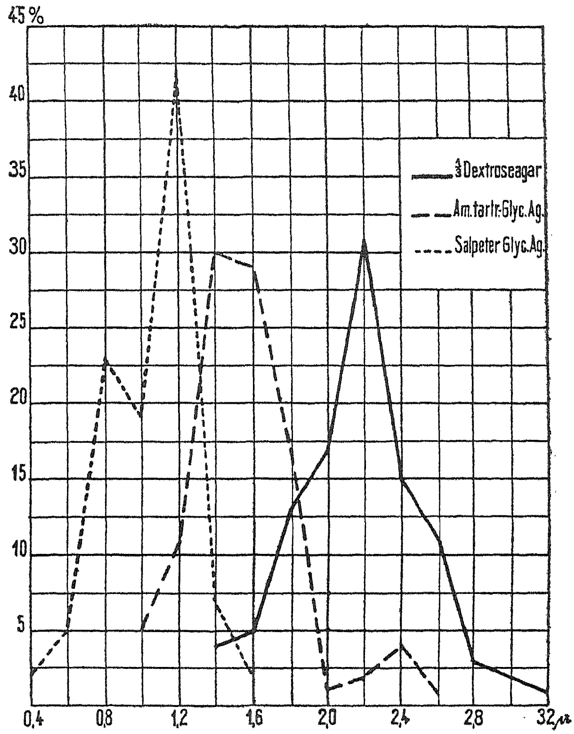


Fig. 4.

Die Temperaturminima und -maxima für die nicht erhitzten Sporen waren (s. p. 15):

	Keimung	Wachstum	Sporenbildung
Minimum	unter 0° (Nachkeimung)	unter 0°	unter 0° (Nachkeimung)
Maximum	zwischen 60—65	zw. 50—55	zwischen 45—50

Das Minimum und Maximum für Sauerstoffkonzentration für das ebenfalls nicht erhitzte Sporenmaterial (siehe unter VII.) waren:

Minimum	Maximum
zw. 1—5 mg	zw. 7500—11 000 mg

Das Maximum der Tötungszeit für die Sporen bei 100° betrug ca. 8—10 Minuten.

V. Einfluß der Temperatur auf die Entwickelung von Bac. luteus und Bac. tumescens.

1. Versuche bei 0°.

Es ist bekannt, daß die niedrigsten erreichten Temperaturen (flüssige

Luft-Versuche von J. Meyer 1900, Smith und Swingle 1905 u. A.) weder Sporen, noch einige vegetative Formen von Bakterien und Kokken zu töten imstande waren. Für Vibrionen hat sich die Erniedrigung der Temperatur bis unter 30° C in dieser Beziehung auch wirkungslos erwiesen (Kasansky 1895). An eine absolute Unwirksamkeit so großer Temperaturschwankungen auf die sie überlebenden Organismen ist jedoch nicht zu denken. Das kann man aus den Versuchen von Klepzoff wohl annehmen, der die pathogenen Eigenschaften von Bac. anthracis durch mehrtägige Wirkung von — 10° Kälte auf die vegetativen Formen erheblich abschwächen konnte (1895).

Die erste Beobachtung, daß einige Leuchtbakterien bei 0° nicht nur ihr Leben behalten, sondern „nahezu ebensogut, wie bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wachsen", verdanken wir Forster (1887). Spätere Untersuchungen (Forster, B. Fischer, Schmidt-Nielsen, M. Müller u. A.) haben gezeigt, daß es mehrere Bakterienarten gibt, welche bei 0° „wachsen, Farbstoffe bereiten, Gas entwickeln, Licht erzeugen etc." Gewisse Anhaltspunkte für das Verhalten von Bakterien bei niedrigen Temperaturen geben auch die Beobachtungen von E. Chr. Hansen (1905) über die Vermehrungsenergie der Hefen bei einer Temperatur, die nahe an 0° liegt. In diesen Bedingungen „erfordert die Bildung eines einzigen Sprosses mehrere Monate, selbst wenn die Zellen sich in günstiger Nährflüssigkeit befinden".

a) Verhalten der Sporen.

Ich habe Aussaatkulturen von Bac. luteus auf $^1/_3$ Agar und von Bac. tumescens auf $^1/_3$ Dextroseagar vom 15. Februar bis 19. März bei der konstanten Temperatur 0° gehalten und die Aussaat von Zeit zu Zeit mikroskopisch untersucht. Die Temperatur wurde konstant bei 0° dadurch gehalten, daß das Gefäß mit den Kulturröhrchen in ein anderes, welches schmelzenden Schnee enthielt, eingestellt war.

Neben den gewöhnlichen Aussaatkulturen untersuchte ich solche, welche mit einem 1 Minute abgekochten Sporenmaterial angelegt waren.

Die Sporen von Bac. luteus verhielten sich vollständig ruhig. Am 19. März vom Schneegefäß in den Thermostaten eingestellt und am folgenden Tage untersucht, wies die normale Kultur eine ausgereifte Sporenfläche, die mit erhitztem Sporenmaterial angelegte vegetative Ruhestäbchen neben einigen Schwärmern und Sporangien auf. Es trat somit, wie ich nebenbei bemerken will, die durch Erhitzen der Sporen hervorgerufene Verspätung in der Entwickelung selbst nach 1 Monat noch hervor.

Anders verhielten sich die Sporen von Bac. tumescens. Ich habe die gut entwickelten Sporen einer 10 Tage alten $^1/_3$ Dextroseagarkultur angewandt, um in der Beobachtung durch die Nachkeimungsbilder des Aussaatmaterials möglichst wenig gestört zu werden. Auf das frische Nährmedium gelangt, verloren die Sporen allmählich ihren Glanz und schwollen trotz der niedrigen Temperatur deutlich an. Sie schickten sich gleichsam zur Auskeimung an. Die meisten kamen aber nicht dazu und man konnte bei ihnen eine gewisse innere Desorganisation beobachten; der mittlere Teil hellte sich auf, die Umrisse wurden undeutlich. Nur einige platzten und das Keimstäbchen löste sich von der Sporenwand deutlich ab (Taf. II, Fig. 4). Sehr selten konnte in dem Keimstäbchen eine neue, nicht deutlich ausgebildete Spore bemerkt werden. Eine Teilung des Keimstäbchens habe ich nie gesehen.

Obwohl diese Erscheinungen nicht auf demselben Nährboden, auf welchem die Sporen zur Reife gekommen waren, sondern auf einem frischen sich abspielten, so glichen sie doch in jeder Beziehung so weit der oben beschriebenen Nachkeimung und mit ihr verbundenen Nachsporierung von Bac. tumescens, daß sie auch hier nicht anders gedeutet werden können. Bei dieser bei niederer Temperatur für alle keimenden Sporen höchst abgekürzten Entwickelungsart der Tumescens-Sporen werden nicht nur die Stadien der Schwärmer und fettspeichernden Schwellformen übersprungen, sondern es kommt nicht einmal zur Anlage einer Teilungswand an dem aus der Spore herausgetretenen Keimstäbchen, dessen Inhalt sich zuweilen unmittelbar nach dem Austritt aus der alten Hülle zu einer neuen Spore umbildet.

b) Verhalten der vegetativen Formen.

Eine andere Reihe von Versuchen bei 0° betrifft solche Kulturen, welche einige Zeit bei 28° vorkultiviert waren und erst dann der Wirkung der Kälte ausgesetzt wurden.

Von Bac. luteus kam eine 5 Stunden alte Kultur, welche aus 2—4-, selten 8-gliedrigen durchsichtigen Ruhestäbchen, die noch kein Fett gespeichert haben, bestand, und eine 8 Stunden alte, aus fettreichen eben vor der Sporenbildung befindlichen Stäbchen bestehende Kultur zur Anwendung. Am 18. Februar in das Schneegefäß gebracht, wurden sie anfangs täglich, dann jeden dritten Tag, später noch seltener untersucht. Bis zum 19. März trat in beiden Kulturen keine wesentliche Aenderung ein. Nur ganz wenig Fett haben die jungen Stäbchen der ersten Kultur gespeichert, bei den meisten sind die Umrisse undeutlich geworden. In der zweiten habe ich kein einziges Sporangium bemerkt.

Bei 28° kamen diese beiden Kulturen nach 24 Stunden zur vollkommenen Sporenbildung.

Bac. tumescens wurde auch in zwei Entwickelungsstadien untersucht: im Zustande der ersten noch ungeteilten Keimstäbchen einer 2 Stunden bei 28° vorgezüchteten Kultur und fettloser, 7 Stunden alter Ruhestäbchen. Der Versuch auf $^1/_3$ Dextroseagar beginnt ebenfalls am 18. Februar. Nach Verlauf eines Monats konnte man in den Keimstäbchen der ersten Kultur wenige Fettkügelchen wahrnehmen; bei einigen von ihnen war auch die Andeutung einer Teilungswand vorhanden, trotzdem ihre Größe gar nicht zugenommen hatte (Taf. II, Fig. 5). Zur Sporenanlage kam es in diesen normal entstandenen Keimstäbchen nicht. Neben ihnen befanden sich in der Kultur noch viele ungekeimte Sporen, welche das gewöhnliche Spiel der Nachkeimung, hier und da mit sekundärer Sporenbildung verbunden, zeigten. Auch hier sehen wir den Unterschied im Verhalten der normalen, den Anfang einer neuen Generation bildenden Keimstäbchen und der durch Nachkeimung entstandenen, meist weder teilungs- noch wachstumsfähigen, dennoch nicht selten zu Sporangien werdenden Formen. Die zweite 7 Stunden alte Tumescens-Kultur bestätigte das an der ersten erhaltene Ergebnis insofern, als auch hier die vegetativen Formen nach einem Monat steril geblieben waren.

2. Versuche bei 7—9°.

Sporen von Bac. luteus keimen bei 7—9° nicht.

Bei Bac. tumescens sind nach 48 Stunden die ersten Keimstäbchen nicht selten zu sehen. Sehr langsam wachsen die Keimstäbchen

aus, teilen sich, bilden Schwellformen, speichern Fett und kommen schließlich zur Sporenbildung (Taf. II, Fig. 6).

Die Entwickelung erfolgt bei 7—9° etwa 20 mal langsamer als bei 28°.

Keimung bei 28° tritt ein nach 2 Stunden
„ „ 7—9° „ „ „ 48 „
Die ersten reifen Sporen erscheinen bei 28° nach 24—36 Stunden
„ „ „ „ „ „ 7—9° „ 20 Tagen

Außer dieser Verlangsamung erfolgt die Entwickelung bei der niedrigen Temperatur viel unregelmäßiger; sie ist überhaupt viel schwächer und besonders die Sporenbildung sehr gehemmt. Ganz normale Sporangien kommen gar nicht vor; die kleine Spore wird gewöhnlich am Ende des unregelmäßig gestalteten Stäbchens angelegt, indem ein kleines Stück desselben, durch eine Querwand abgegrenzt, zum Sporangium wird.

Wie bei 0°, so habe ich auch hier das Verhalten vegetativer Formen von Bac. luteus untersucht. Die 8 Stunden bei 28° vorgezüchtete, aus lauter vegetativen Stäbchen bestehende Kultur wurde am 1. März in den Kälteschrank (7—9°) eingestellt. Am 2. März untersucht, bestand die Kultur aus zweierlei Formen: mächtig Clostridium-artig angeschwollenen Einzel- und Doppelstäbchen, welche am freien Ende meist etwas zugespitzt waren, und dünnen, zu wenigzelligen Reihen verbundenen Sporangien mit dazwischen eingeschalteten ebenfalls nicht verdickten sterilen Stäbchen (Taf. II, Fig. 11). Die kleinen kümmerlichen Sporen reiften sehr langsam und waren am 19. März, als der Versuch abgebrochen werden mußte, aus den Sporangienhüllen noch nicht befreit.

3. Entwickelung bei Zimmertemperatur.

Die Temperatur im Laboratoriumszimmer, wo die Kulturen frei auf einer Etagere standen, schwankte zwischen 14° C am Morgen und 22°, selten 24° C am Abend.

a) Bac. luteus. In einer am Morgen um 10 Uhr (Temp. 17°) angelegten Kultur wurden Anfänge der Keimung erst nach 7 Stunden, um 5 Uhr Abends (Temp. 20°), konstatiert. Nach 24 Stunden weist die Kultur schon mehrmals geteilte Stäbchen und längere Fäden — sämtlich noch ohne Fett — nebst einigen Schwärmern und eben aus der Spore heraustretenden Keimstäbchen auf. Aeußerlich ist auf der Agaroberfläche kaum eine Vegetation zu unterscheiden. Nach 32 Stunden tritt der Pilzüberzug schon deutlich hervor. Das mikroskopische Bild zeigt etwas angeschwollene Ruhestäbchen von 4—5 μ Länge und 1,4—1,8 μ Breite, neben ihnen dünnere, 0,6—1,0 μ breite Fäden und nur selten Sporangien. Nach 48 Stunden hat die Zahl der Sporangien deutlich zugenommen, reife Sporen findet man nur höchst selten. Nach 72 Stunden findet man reichlich Sporen, Sporangien — oft mit zugespitzten Enden — und neben ihnen im Absterben begriffene vegetative Formen (Taf. II, Fig. 12). Nach Verlauf von weiteren 48 Stunden, d. i. am 6. Tage nach der Aussaat, besteht die Kultur fast nur aus Sporen, Sporangien trifft man nur ausnahmsweise. Selten sind auch die steril gebliebenen vegetativen Individuen, von denen einige charakteristische bakteroidale Verzweigungen [1]) aufweisen.

---

1) Das Auftreten der Zweigformen von Bac. luteus wurde schon oben bei Beschreibung seiner Entwickelung bei 28° erwähnt. An dieser Stelle möchte ich den

Die ausgereiften Sporen unterscheiden sich kaum von denjenigen, die bei 28° auf demselben Nährboden (1/3 Agar) zur Entwickelung kommen. Die Längenmessung ergab folgende Zahlenreihe:

Länge μ	Individuen
0,8	2
1,2	7
1,4	18
1,6	27
1,8	24
2,0	10
2,2	8
2,4	4

M = 1,67 μ

Die Breite variierte zwischen 0,6 und 1,2 μ.

b) Bac. tumescens. Neben der Verlangsamung der Entwickelung (reife Sporen traten erst am 5. Tage auf) ist hier eine deutliche Verkleinerung der Sporen zu verzeichnen. Die Messung am 8. Entwickelungstage (auf 1/3 Dextroseagar) ergab:

Länge μ	Individuen
0,8	1
1,0	1
1,2	10
1,4	32
1,6	40
1,8	18
2,0	4
2,2	3
2,4	1

M = 1,53 μ

4. Entwickelung bei höheren Temperaturen. Die Kardinalpunkte für Bac. luteus und Bac. tumescens.

35°. Bei 35° ist die Entwickelung von Bac. luteus im Vergleich mit derjenigen bei 28° etwas beschleunigt: die Keimung beginnt schon nach 1½ Stunden, die ersten freien Sporen treten nach 10 Stunden auf. Die Sporen unterscheiden sich von den bei 28° gebildeten weder in ihrer Größe noch in der Gestalt.

40°. Die Kulturen bei 40° boten ein ähnliches Bild, wie bei 35°. Es schien aber schon die Fettspeicherung etwas weniger intensiv vor sich zu gehen und machte sich eine Tendenz zur Fadenbildung bemerkbar.

45°. Noch mehr beschleunigt ist die Entwickelung bei 45°. Keimstäbchen sind nach 1 Stunde reichlich vertreten, nach 1½ Stunde haben sich schon einige von ihnen geteilt; die ersten Sporenanlagen kann man nach 5—6 Stunden beobachten. Sporangien kommen aber im allgemeinen nur selten vor. Das Gros der Formen zeigt eine rein vegetative Entwickelung; die Fettspeicherung erfolgt dürftig und selbst nach 48 Stunden tritt keine allgemeine Fruktifikation ein. Am zweiten und dritten Ent-

Unterschied zwischen den Zweigbildungen dieser vegetativen Nachzügler in ausgereiften Kulturen von Bac. luteus und den von Prof. Art. Meyer (1901) an Bac. cohaerens und von Lepeschkin (1904) an dem von ihm Bac. Berestnewii genannten Organismus beschriebenen hervorheben. Prof. Art. Meyer gibt an, daß „die Bildung von Zweigen am normalsten im Jugendzustande seiner Species stattfindet“, während bei Bac. luteus, im Gegenteil, nur die seltenen ältesten vegetativen Formen der vollständig ausgereiften Kulturen zur Verzweigung übergehen. Ich bezeichne dieselbe daher als „bakteroidal“, um sie dadurch in eine Reihe mit der bekannten Absterbeerscheinung der Knöllchenbakterien zu bringen.

wickelungstage zeigen die Kulturen einen widrigen faulen Geruch, der erst am vierten Tage etwas abnimmt. Im Laufe folgender Tage kommen die vegetativen Fäden langsam zur Sporenbildung. Die runden kleinen Sporen liegen meist am Ende der fädigen Sporangien von sehr wechselnder Länge.

Auf normalem Agar ist die Sporenbildung noch dürftiger als auf $^1/_3$ Agar und selbst nach 14 Tagen (Temperaturschwankung 43—46°) sind Sporangien unter den Fäden nur sehr selten zu finden. Oft sind auf normalem Agar Stäbchen mit mächtig birnenförmig angeschwollenen Enden zu sehen (Taf. II, Fig. 13). Es ist immer das ältere Ende des kurz vorher geteilten Stäbchens, welches angeschwollen ist. Diese Formen stehen im Gegensatz zu den bei 7—9° entstehenden Schwellformen. Dort ist das Wachstum des Stäbchens gehemmt (die Enden sind zugespitzt), bei 45° dagegen befördert.

Durch die hohe Temperatur wird der Organismus erheblich geschwächt, was unter anderem aus der Herabsetzung seines Säureproduktionsvermögens folgt. Je 50 ccm der mineralischen Ammoniumtartrat-Glycerinlösung (p. 738. Bd. XIX), mit 20 Stunden bei 45° vorkultiviertem Bac. luteus geimpft, verbrauchten nach 6-wöchentlicher Kultur bei 28°:

a) 0,5 ccm $^1/_{10}$-norm. NaOH (Lackmus).

b) 0,6 „ „ „ „

Die Produktion von Säure ist somit im Vergleich zu der des bei 28° vorkultivierten Bacillus fast um das 10-fache gefallen.

Auch die Tötungszeit der Sporen fällt beträchtlich, was die folgende Bestimmung, die an einer während 3 Wochen in dem Wärmeschrank gehaltenen Kultur vorgenommen wurde, beweist:

0,5′	+	—	—
1′	+	—	—
2′	—	—	—

Bei Bac. tumescens äußerte sich die Wirkung der Wärme noch stärker als bei Bac. luteus. Schon makroskopisch ist die Wirkung sehr auffallend: der Pilzbelag ist dünn, sehr zart, auf $^1/_3$ Dextroseagar noch ziemlich deutlich, aber auf normalem Dextroseagar fast nicht mehr zu sehen. Die Entwickelung erfolgt unregelmäßig; man sieht dünne, spärlich geteilte Fäden, daneben aber auch viele unregelmäßig zerfallende Schwellformen (Taf. II, Fig. 7); beide sind fettarm. Zuweilen trifft man auch hier Gestalten mit kolbenförmig angeschwollenen Enden. Die Sporenbildung ist noch mehr gehemmt als bei Bac. luteus.

Ein Tötungsversuch der Sporen einer 3-wöchentlichen Kultur ergab:

2′	+	—	—
4′	—	—	—
6′	—	—	—

NB. Alle folgende Angaben beziehen sich auf $^1/_3$ Agarkulturen von Bac. luteus resp. $^1/_3$ Dextroseagarkulturen von Bac. tumescens.

50°. Das Wachstum war, besonders bei Bac. tumescens, kaum noch zu sehen. Sporenbildung konnte nicht festgestellt werden.

55°. Bei 55° trat die Keimung ebenso bei einigen Sporen von Bac. luteus wie von Bac. tumescens noch ein. Ein weiteres Wachstum und eine Teilung der Keimstäbchen habe ich auch nach 4 Tagen nicht gesehen.

60°. Auch bei 60° konnte die Auskeimung vereinzelter Individuen der beiden Species auf den erwähnten Nährmedien festgestellt werden.

65°. Erst bei 65° war die Keimung nicht mehr zu sehen. Die

Sporen schwollen etwas an, kamen aber nicht zum Platzen und das Stäbchen trat nicht mehr aus der Sporenhaut heraus.

Ich habe in gewissen Zeitabständen Ueberimpfungen des bei 65° gehaltenen auf Agar ausgesäten Sporenmaterials vorgenommen, um die Tötungszeit bei dieser Temperatur zu bestimmen. Es ergab sich folgende Tötungszeit.

a) Bac. luteus		b) Bac. tumescens	
nach 63 Stunden	+	nach 33 Stunden	+
„ 72 „	—	„ 48 „	—
„ 81 „	—	„ 53 „	—

Auf Grund der angeführten Kulturversuche lassen sich für Bac. luteus folgende Kardinalpunkte für Temperaturen aufstellen:

	Sporenkeimung	Wachstum	Sporenbildung
Minimum	über 9°	über 9°	7—9°
Optimum	zw. 40 u. 45°	zw. 35 u. 40°	ca. 35°
Maximum	„ 60 „ 65°	„ 50 „ 55°	zw. 45 u. 50°

Die Minima und Maxima für (nicht aufgekochte) Bac. tumescens-Sporen betragen:

	Sporenkeimung	Wachstum	Sporenbildung
Minimum	unter 0° (Nachkeimung)	unter 0°	unter 0° (Nachkeimung)
Maximum	zw. 60 u. 65°	zw. 50 u. 55°	zw. 45 u. 50°

VI. Wirkung chemischer Abschwächungsmittel: Phenol, Kaliumbichromat und Kupfersulfat.

1. Entwickelung auf Agar mit Phenol.

E. Roux (1890) und später H. Surmont und E. Arnould (1894) erhielten durch Kultur in phenolhaltiger Bouillon „asporogene Rassen“ von Bac. anthracis. Als Kriterium des Ausbleibens resp. des Vorhandenseins von Sporen in einer Kultur diente das Verhalten ihres Materials nach dem Erhitzen während 15 Minuten auf 65°. Als letzten Beweis der Asporogenie seines Stammes gibt Roux an, daß er selbst im humor aqueus des Kaninchen- oder Schafauges keine Sporen bildete: „La bactéridie ordinaire y donne déjà, après 12 heures, de beaux germes, la bactéridie asporogène reste privée de spores, même cultivée dans l'humeur aqueuse, fraiche et aérée. . . Nous ne connaissons jusqu'ici aucun moyen de rendre aux bacilles modifiés l'aptitude à faire de nouveau des spores. . . Les cultures asporogènes finissent par périr à 33° après un temps plus ou moins long, mais qui dépasse en général un mois“ (p. 23).

Surmont und Arnould haben die Versuche von Roux wiederholt und schreiben darüber: „Nos essais furent d'abord malheureux; un grand nombre de tubes de bouillon phéniqué nous donnèrent des bactéridies dépourvues de spores dans beaucoup de cultures d'origine, mais en reprenant régulièrement dès le premier passage dans un bouillon normal; de sorte que ce ne fut qu'après un assez grand nombre d'expériences que nous eûmes du charbou définitivement asporogène. Sur 28 tubes phéniqués choisis parmi les numéros perdant le plus facilement leurs

spores et tenus en observation jusqu'au 23^{me} jour au moins, nous avons eu seulement trois fois du charbon asporogène".

Bezüglich der Kulturen dieser Versuche verweise ich auf p. 642. Bd. XIX.

Nach dem Vorgange von Roux habe ich für meine Kulturen Nährmedien mit 2:10000—20:10000 Phenolgehalt angewandt. Zu den je 7,5 ccm normalen Fleischextrakt-Peptonagar, resp. denselben Agar mit 1 Proz. Dextrosezusatz enthaltenden Röhrchen wurde je 0,1—0,2—0,3 u. s. w. bis 1 ccm einer 1,5-proz. wässerigen Phenollösung zugegeben. Ich habe den normalen konzentrierten Agar dem $^1/_3$ Agar vorgezogen, weil — wie die obigen Versuche beweisen — schon der größere Gehalt an Nährsubstanzen selbst das vegetative Wachstum fördert und somit die Aussicht für das Erhalten asporogener Stämme vergrößert. Auf Phenolagar (Ph) wurde Bac. luteus, auf Phenol-Dextroseagar (PhD) Bac. tumescens, beide bei 28° kultiviert.

Aussaat 15. Mai. Untersuchung 29. Mai.

Bac. luteus. Proben mit 0,7—1,0 ccm Phenolgehalt wiesen makroskopisch keine Entwickelung auf. Auf 0,8 Ph trat noch bei einigen Sporen Keimung ein, von 0,9 Ph an fand sie nicht mehr statt. Die wenigen einzelnen schleimigen Kolonieen, welche auf 0,6—0,4 Ph zur Entwickelung gekommen waren, bestanden aus undeutlich konturierten Fäden, unter welchen Sporangien nur ganz selten gefunden werden konnten (Taf. II, Fig. 14). 0,3 Ph war die erste, etwas zahlreicher mit Sporangien versehene Kultur.

Um eine intensivere Schwächung hervorzubringen, wurde eine Ueberimpfung von 0,6 Ph I auf 0,6 Ph II (frisch mit 0,6 ccm der 1,5-proz. Phenollösung versetzter Agar) am 31. Mai vorgenommen und am 3. Juni von der, eine sehr schwache, noch rein vegetative Entwickelung aufweisenden Kultur 0,6 Ph II auf phenolfreien $^1/_3$ Agar übergeimpft. Nach 3 Tagen untersucht wies die Kultur lauter gut ausgebildete Sporen auf. In der Kultur 0,6 Ph II selbst und in einer von ihr am 4. Juni angelegten Kultur 0,6 Ph III hat sich bei der Untersuchung am 17. Juni die Gegenwart von wenigen Sporen gezeigt.

Ein mit den Sporen von 0,3 Ph I am 15. Juni angestellter Tötungsversuch ergab:

2′ + ——
4′ — ——
6′ — ——

Die Sporenmessung für die Kultur 0,3 Ph I ergab:

Länge in μ	Individuenzahl
0,6	4
0,8	19
1,0	25
1,2	16
1,4	20
1,6	9
1,8	6
2,4	1

M = 1,12 μ.

Bac. tumescens. Das Verhalten von Bac. tumescens auf Phenolagar war demjenigen von Bac. luteus ähnlich (Taf. II, Fig. 8). Die Proben 0,9 PhD und 1 PhD haben sich nicht entwickelt. Keimungsanfänge waren aber in ihnen vorhanden. Auch hier hatten die ersten Proben (bis 0,3 PhD) nach 2-wöchentlicher Entwickelung Sporen gebildet, während die weiteren nur vereinzelt Sporen enthielten und 0,8 PhD ihrer

noch ganz entbehrte. Diese Kultur wurde als Ausgangskultur für weitere Schwächung auf 0,6 PhD II und 0,6 PhD III (die Entwickelung auf 0,8 PhD II war so schwach, daß man mit dem Phenolgehalt zurückgehen mußte) benutzt. Nach 3 Wochen waren aber auch in der letzten Kultur Sporen, wenn auch nur vereinzelt, erschienen.

Die vegetativen Morphoden von Bac. tumescens auf Phenolagar zeigten nicht so ausgeprägt Fadenform, wie bei Bac. luteus. Nach Verlauf von etwa 3 Wochen, als die Sporenbildung etwas lebhafter einsetzte (infolge der allmählichen Verdampfung von Phenol) trat auch eine etwas intensivere Teilung der Stäbchen ein. Nachkeimung fand bei den Sporen hin und wieder statt.

Tötungsversuch mit Sporen von 0,3 PhD I, ausgeführt am 15. Juni:

2′	+	+	—
4′	+	—	—
6′	+	+	—
8′	—	—	—
10′	—	—	—

Die Messung der Sporen der Kultur 0,3 PhD I ergab:

Länge in μ	Individuenzahl
0,6	1
0,8	4
1,0	3
1,2	19
1,4	27
1,6	25
1,8	10
2,0	5
2,2	3
2,4	2
2,6	1

M = 1,47 μ.

2. Entwickelung auf Agar mit Kaliumbichromat.

Nach Chamberland und Roux (1883) ist Kaliumbichromat ein Schwächungsmittel, welches eventuell auch zur Asporogenie führen kann. Der erste asporogene Stamm vom Milzbrandbacillus wurde eben auf Kulturen mit $K_2Cr_2O_7$ erhalten.

Meine Kulturröhrchen enthielten dieselben prozentischen Mengen von $K_2Cr_2O_7$, wie von Phenol. Für Bac. luteus sind sie mit 0,1 Chr bis 1 Chr, für Bac. tumescens 0,1 ChrD bis 1 ChrD bezeichnet. Die Aussaat und die Untersuchung geschah gleichzeitig mit den phenolhaltigen Kulturen.

Die Wirkung war bei beiden Organismen ungefähr gleich: nur die ersten drei Röhrchen mit dem kleinsten $K_2Cr_2O_7$-Gehalt (0,1—0,3 ccm der 1,5-proz. $K_2Cr_2O_7$-Lösung in je 7,5 ccm Nähragar entsprech. 0,0002 bis 0,0006 Proz. $K_2Cr_2O_7$) wiesen eine sehr schwache Vegetation auf. Außerdem war noch eine äußerst schwache Entwickelung von Bac. tumescens auf 0,5 ChrD vorhanden. Makroskopisch war die Entwickelung von Bac. luteus auf 0,2 Chr und 0,3 Chr und von Tumescens auf 0,3 ChrD nicht zu erkennen. Die Vegetation bei Luteus bestand nach 2-wöchentlicher Kultur aus vielfach gewundenen Fäden von ungleichmäßiger Dicke (Taf. II, Fig. 15), ohne jede Sporenandeutung. Bei Bac. tumescens waren gedrehte Formen nicht vorhanden; man sah meist Stäbe von sehr wechselnden Dimensionen, einige in lebhafter

Teilung begriffen (Taf. II h, Fig. 9); sehr selten waren auch Sporangien zugegen.

Ebenso wie bei den phenolhaltigen Kulturen wurden die Grenzkulturen 0,1 Chr und 0,2 ChrD als Ausgangsmaterial für Weiterzüchtung auf gleichem Nährboden angewandt. Nach 3-wöchentlicher Entwicklungsdauer waren Sporen auch in der zweiten bichromathaltigen Kulturserie, wenn auch nicht zahlreich, gebildet.

Für die Größe der Sporen haben sich folgende Variationstabellen aufstellen lassen:

Bac. luteus

Länge in μ	Individuenzahl
0,6	1
0,8	1
1,0	9
1,2	25
1,4	26
1,6	31
1,8	6
2,0	1

M = 1,41 μ

Bac. tumescens

Länge in μ	Individuenzahl
0,8	5
1,0	14
1,2	40
1,4	29
1,6	10
1,8	2

M = 1,25 μ.

Die kleinen Sporen von Bac. tumescens sind die primär entstandenen. Nachkeimung war auf dem bichromathaltigen Agar überhaupt nicht vorhanden.

3. Entwickelung auf Agar mit Kupfersulfat.

Aus den Versuchen von Andr. Richter (1901) über „die Rolle des Zinks und Kupfers bei der Ernährung von Aspergillus niger“ folgt, daß „Kupfersalze ($CuSO_4$) in allen Verdünnungen das Wachstum unter normal halten“, indem sie immer eine schädliche, niemals stimulierende Wirkung ausüben. Zu einem entgegengesetzten Resultat kommt bei seinen Untersuchungen N. Ōno (1902), nämlich, „daß Kupfersalze ($CuSO_4$) in verdünnten Lösungen den Ernteertrag (von Aspergillus niger) erhöhen und sie in dieser Beziehung sich den Salzen des Zn und anderer Metalle anschließen“. Ein ähnliches Ergebnis, wie Andr. Richter für Aspergillus, erhielt Masayasu Kanda (1904) betreffs der Wirkung von Kupfersulfat auf Wasserkulturen einiger höherer Pflanzen (Pisum-Arten, Vicia Faba, Fagopyrum esculentum).

Ich habe die Röhrchen mit Agar und Dextroseagar zuerst mit denselben Mengen einer 1,5-proz. Kupfervitriollösung, wie oben für Kaliumbichromat und Phenol angegeben, versetzt.

Bei der Untersuchung am 17. Mai der am 15. Mai vorgenommenen Aussaat hat sich gezeigt, daß sämtliche Kupfersulfat enthaltende Proben, sowohl die B. luteus-, wie die Tumescens-Kulturen, steril geblieben waren. Diese Kulturen entwickelten sich bis zum 29. Mai nicht.

Die Kupfervitriollösung wurde weiter um das zehnfache verdünnt und in denselben Volumquantitäten, wie früher, dem Agar zugesetzt. Diese zweite Versuchsreihe enthielt demnach je 0,1 bis 1 ccm der 0,15-proz. Kupfervitriollösung in je 7,5 ccm Nähragar, was einem Gehalte von 0,00002 bis 0,0002 Proz. $CuSO_4 + 5\,H_2O$ entspricht (Bezeichnung $0{,}1\,\frac{Ku}{10}$ bis $1\,\frac{Ku}{10}$ resp. $\frac{Ku}{10}D$).

Die konzentriertesten Proben, für Bac. tumescens von $0{,}6\,\frac{Ku}{10}D$

an, für Bac. luteus 0,7 $\frac{Ku}{10}$ und von 0,9 $\frac{Ku}{10}$ an, sind steril geblieben. In den Proben 0,6 $\frac{Ku}{10}$ und 0,8 $\frac{Ku}{10}$ bei B. luteus kamen nur einzelne Kolonieen zur Entwickelung, dasselbe in 0,4 $\frac{Ku}{10}$D und 0,5 $\frac{Ku}{10}$D bei Tumescens.

Bei der ersten Untersuchung, welche nach Verlauf von 20 Stunden nach der Aussaat geschah, waren Sporangien in den Grenzkulturen 0,8 $\frac{Ku}{10}$ und 0,6 $\frac{Ku}{10}$D noch nicht vorhanden, in 0,6 $\frac{Ku}{10}$ und 0,4 $\frac{Ku}{10}$D nur selten vertreten. Alle übrigen Proben wiesen zu dieser Zeit eine zum größten Teil ausgereifte, gut entwickelte Sporenfläche auf. Eigentümlich war an diesen Kulturen, daß die Agarschicht bei allen sich tief gebräunt hat; bei B. luteus war sie ganz dunkel, undurchsichtig braun, bedeutend dunkler, als bei Bac. tumescens. Der Sporenbelag selbst, welcher bei Tumescens in den gewöhnlichen Kulturbedingungen sich beim Aelterwerden nur ganz schwach bräunt, war hier auch deutlich rötlichbraun gefärbt und dadurch konnten sofort makroskopisch die reifen Stellen des Belages von den weißen des vegetativen Wachstums unterschieden werden. Noch tiefer braun war der Sporenbelag von Bac. luteus. Eine weitere Eigentümlichkeit der kupfersulfathaltigen Kulturen bestand in der Abwesenheit fädiger Formen. Sowohl die Tumescens- wie die Luteus-Kulturen zeichneten sich durch eine sehr rege Teilbarkeit aus. In jungen wie in älteren (bis 2 Wochen alten) Kulturen herrschte bei beiden Arten die Form des unregelmäßig ovalen angeschwollenen Stäbchens vor (Taf. II, Fig. 10 und 16). Selbst in den Dimensionen dieser Morphoden beider Species bestand kein großer Unterschied: die meisten besaßen etwa 3—5 μ (bei Tumescens zuweilen mehr) im Längs- und 2—3 μ im Querdurchmesser. Die von Luteus 0,8 $\frac{Ku}{10}$ und Tumescens 0,5 $\frac{Ku}{10}$D weiter auf kupfersulfathaltigem Agar mit gleichem oder mit höherem $CuSO_4$-Gehalt gezüchteten Kulturen verhielten sich wie die mit Phenol oder mit Kaliumbichromat: entweder entwickelten sie sich gar nicht, oder, wenn sie zur Entwickelung kamen, bildeten sie immer Sporen. Die Entwickelung derselben trat aber hier immer allgemeiner und früher, als in den erwähnten, andere Giftstoffe enthaltenden Kulturen, ein.

Auf kupfersulfathaltigem Dextroseagar war die Nachkeimung von Bac. tumescens ebenso, wie auf reinem Dextroseagar zu beobachten, was auch die Vergleichung folgender Variationstabellen der Sporengröße einer 8 Tage (I) und 6 Wochen (II) alten Kultur (0,6 $\frac{Ku}{10}$D) beweist:

(Siehe Tabellen p. 20.)

Aus der Vergleichung der schädigenden Wirkung der drei untersuchten Stoffe, Phenol, Kaliumbichromat und Kupfersulfat auf Bac. luteus und Bac. tumescens folgt:

1) Eine vollständige Hemmung der Entwickelung der genannten

Länge in μ	Individuenzahl I	Individuenzahl II
1,0	1	7
1,2	6	27
1,4	19	42
1,6	26	19
1,8	26	5
2,0	13	—
2,2	4	—
2,6	1	—
2,8	2	—
3,0	1	—
3,2	1	—
	M = 1,68 μ	M = 1,38 μ

Die Sporengröße von Bac. luteus auf 0,5 $\frac{Ku}{10}$ betrug:

Länge in μ	Individuenzahl
1,2	12
1,4	25
1,6	32
1,8	16
2,0	5
2,2	8
2,4	1
2.6	1
M = 1,58 μ	

Bakterienspecies auf gewöhnlichem resp. auf Dextroseagar tritt ein bei einem Gehalte des Kulturmediums

a) zwischen 0,00012 und 0,00018 Proz. $CuSO_4 + 5 H_2O$
b) „ 0,0008 „ 0,0012 „ $K_2Cr_2O_7$
c) „ 0,0014 „ 0,0018 „ C_6H_5OH.

2) Durch die Wirkung aller genannten Agentien in den maximalen von den Organismen vertragenen Dosen wird die Sporenbildung beeinträchtigt, und zwar

a) dieselbe wird verzögert,

b) die Zahl der sporenbildenden Individuen wird bis auf einige wenige (bei Phenol) vermindert,

c) die Größe der Sporen wird herabgesetzt.

3) In vegetativer Beziehung ist das Anlegen regelmäßiger Teilungswände durch Phenol und Kaliumbichromat beeinträchtigt, was zur Bildung von Fäden führt (auf Phenolkulturen in höherem Maße als auf Kaliumbichromatkulturen), bei Bac. luteus weisen außerdem die letzten bizarre Krümmungen auf (besonders auf $K_2Cr_2O_7$-Agar); Kupfersulfat begünstigt — im Gegenteil — die Teilbarkeit der Stäbchen und ihren Zerfall in unregelmäßige ovale oder rundliche Schwellformen.

(Schluß folgt.)

Beiträge zur Physiologie der fakultativ anaëroben Bakterien.

[Aus dem Laboratorium f. Pflanzenphysiologie u. Mikrobiologie d. Instituts f. Land- u. Forstwirtschaft, Nowo-Alexandria.]

Von **G. Ritter**,

Mit 2 Figuren.

I. Die Kohlenstoff- und Stickstoffquellen bei der fakultativen Anaërobiose.

Einleitung.

Die Frage über die Notwendigkeit gewisser Ernährungsbedingungen für ein fakultativ-anaërobes Wachstum der Bakterien ist zum ersten Male wohl von Escherich (1. p. 130) berührt worden. Wir finden bei ihm die Angabe, daß B. lactis aërogenes sich nur in zuckerhaltiger Nährlösung anaërob entwickeln kann.

In der beinahe gleichzeitig erschienenen Arbeit von Liborius (2), welche die erste systematische Untersuchung über das Sauerstoffbedürfnis der Bakterien enthält, wird die Frage über den Einfluß des Zuckers auf die Anaërobiose ebenfalls diskutiert. Doch der Umstand, daß Liborius zu seinen Versuchen immer Fleischbouillon anwandte, welche sehr oft schon an sich bis 0,3 Proz. gärfähigen Muskelzucker enthält, verleitete ihn zu einigen Fehlschlüssen, welche erst später von Th. Smith (3 u. 4) und mir (5) korrigiert wurden.

Während die Arbeiten von Th. Smith eine ganze Reihe von Bakterienspecies behandeln und die Abhängigkeit ihrer anaëroben Entwickelung von Traubenzucker und einigen anderen Kohlehydraten feststellen, beschränken sich die übrigen hierher gehörenden Arbeiten nur auf eine oder zwei Arten (6, 7, 8, 26). Dabei muß noch erwähnt werden, daß in einer von diesen Arbeiten (Ide, 7) B. coli und lactis aërogenes behandelt werden, welche schon von Smith und Escherich untersucht worden sind, so daß nur die beiden anderen (Zopf und Omelianski) einige neue Resultate enthalten. Doch wird die Frage über die Ernährung der fakultativ-anaëroben Bakterien in keiner von diesen Arbeiten einer systematischen und genauen Prüfung unterzogen, wie sich das gleich beim Besprechen ihres Inhalts zeigen wird. Es schien mir daher eine systematische Untersuchung dieser Frage nicht ohne Interesse zu sein; doch ehe ich mich zu meinen eigenen Versuchen wende, möchte ich den Inhalt der oben erwähnten Arbeiten einer kurzen Besprechung unterziehen.

Auf die fehlerhaften Schlüsse von Liborius brauchen wir nicht näher einzugehen, weil die Ursachen seines Irrtums durch spätere Arbeiten genügend aufgeklärt und auch die Versuchsergebnisse direkt widerlegt worden sind. Allerdings hat sich die Behauptung Liborius', daß B. prodigiosum sowohl mit als auch ohne Zucker anaërob wachsen könne, und zwar im ersten Falle auch eine Gärtätigkeit entfalte, lange genug am Leben erhalten und ist auch in bekannte Lehrbücher übergegangen, ehe die Unzulänglichkeit dieser Behauptungen von mir erwiesen worden ist (5)[1].

---

1) Meine Resultate sind von Samkow (9. p. 310) bestritten, dagegen von Mary Hefferan (10. p. 397) bestätigt worden. Samkow will meine Resultate durch un-

Th. Smith gebührt das Verdienst, zum erstenmal eine größere Anzahl fakultativ-anaërober Bakterien auf ihre Beziehung zu einigen Kohlehydraten (Dextrose, Saccharose und Laktose) untersucht zu haben. Unter Berücksichtigung der von Liborius übersehenen Fehlerquelle (häufiges Vorkommen von Muskelzucker in gewöhnlicher Fleischbouillon), kommt Th. Smith zu dem Resultat, daß B. coli, cloacae, pneumoniae, lactis aërogenes typhi, Proteus vulgaris und die Bakterien der Hogcholeragruppe in zuckerfreier Bouillon nur aërob, in gezuckerter auch anaërob (unter Vergärung des Zuckers) wachsen können. Die beste Kohlenstoffquelle von den drei untersuchten Zuckerarten bildet die Dextrose; Laktose ist für Proteus vulgaris, Saccharose für einige Coli-Rassen ungünstig.

Ein genaueres Eingehen auf die Frage über die notwendigen C- und N-Quellen findet sich in diesen Arbeiten nicht; auch muß die von Th. Smith angewandte Methode der anaëroben Kulturen (Kulturen im Gärungskölbchen) mehr für praktische Zwecke genügend, als für genaue wissenschaftliche Untersuchungen über Anaërobiose ausreichend bezeichnet werden.

Smith beobachtet die Entwickelung seiner Bakterien im geschlossenen Schenkel des Gärungskölbchens und zieht daraus Schlüsse über ihre Fähigkeit zu anaërobem Wachstum. Gegen die uneingeschränkte Gültigkeit dieser Schlußfolgerung spricht aber folgender Einwand, zu dem mich besonders einige Resultate der ausgezeichneten Arbeit von Omelianski (8. p. 186 u. 187) berechtigen. Man muß nämlich streng unterscheiden zwischen der Befähigung zu anaërober Vergärung eines bestimmten Substrates und anaërobem Wachstum auf demselben Substrate. Die zitierte Stelle aus Omelianskis Arbeit zeigt uns, daß Bacterium formicicum vollständig unfähig ist, auf Pepton-Nährsalzlösung mit Natriumformiat anaërob zu wachsen; läßt man es aber zunächst unter Luftzutritt auf diesem Substrat anwachsen, so kann die gebildete Bakterienmasse das ameisensaure Natrium sehr wohl in vollkommen anaëroben Bedingungen vergären. Da aber die meisten von Smith untersuchten Bakterien den geschlossenen Schenkel des Gärkölbchens unter Vergärung der zugesetzten Kohlehydrate trübten, so entsteht die Frage, ob diese Trübung auch wirklich als anaërobes Wachstum aufzufassen sei, und nicht als die Folge von einem rein mechanischen Mitreißen der zu Boden gesunkenen Bakterien durch die aufsteigenden Gasblasen. Daß diese Methode jedenfalls durch eine genauere ersetzt werden muß, wenn es sich um die Entscheidung der Frage über anaërobes Wachstum handelt, zeigt auch eine Bemerkung Smiths (4. p. 7), daß bewegliche fakultativ anaërobe Bakterien auch in zuckerfreier Nährlösung eine schwache Trübung des geschlossenen Schenkels verursachen.

Von den übrigen Arbeiten enthält nur diejenige von Omelianski (8. p. 317) genauere Angaben über die für anaërobes Wachstum notwendigen Kohlenstoffquellen. Omelianski zeigt, daß Pepton-Nährsalzlösung allein und auch mit Zugabe von Natriumformiat dem B. formicicum kein anaërobes Wachstum gestattet. Dieses wird durch Zusatz von Glukose, Galaktose, Milchzucker, Mannit, Dulcit, Arabinose oder Maltose möglich; sämtliche Körper

genügende Entfernung des Sauerstoffs erklären und spricht dem B. prodigiosum die Fähigkeit zur Anaërobiose auch bei Zuckergegenwart ab. In der vorliegenden Arbeit habe ich aber auch bei Anwendung einer vollkommeneren Versuchsmethode meine früheren Befunde nur bestätigen können.

werden dabei unter Gasbildung zersetzt („vergoren"). Dagegen wird Rohrzucker, Stärke, Dextrin, Inulin, Gummi, Aethylenglykol, Glycerin und Erythrit nicht in Gärung versetzt; ob ein anaërobes Wachstum auf diesen Substraten stattfindet, bleibt leider unerwähnt, kann aber auf Grund anderer Tatsachen verneint werden. Auf die interessanten Beziehungen zwischen Anaërobiose und Gärfähigkeit des B. formicicum habe ich schon früher aufmerksam gemacht. Wir begegnen hier eigentlich einer Tatsache, welche durchaus nicht vereinzelt dasteht. So sind die meisten alkoholbildenden Mucoraceen zu einem anaëroben Wachstum durchaus unfähig; ihr aërob entwickeltes Mycel kann aber ansehnliche Zuckermengen unter streng anaëroben Bedingungen in alkoholische Gärung versetzen.

Die Angaben, welche Ide (7) über B. coli und B. lactis aërogenes macht, decken sich insofern mit denjenigen von Escherich und Smith, als diese Bakterien auch nach Ide nur in zuckerhaltigen Nährlösungen anaërob gedeihen können.

Dasselbe Verhalten zeigt nach Zopf (6. p. 93) das fakultativ anaërobe B. vernicosum.

Daß B. prodigiosum auch keine Ausnahme von dieser Regel bildet, ist aus meiner Arbeit (5) zu ersehen[1]).

Wenn wir das Ergebnis aller angeführten Arbeiten kurz zusammenfassen, so können wir nur sagen, daß für eine Anzahl von fakultativ-anaëroben Bakterien festgestellt ist, daß ihr anaërobes Wachstum nur in Gegenwart von gewissen Kohlehydraten möglich ist. In einem Falle ist auch die Möglichkeit eines solchen auf Mannit und Dulcit nachgewiesen (B. formicicum).

Leider ist aber der größte Teil dieser Resultate durch eine nicht ganz einwandfreie Methodik (vergl. das über Smiths Gärkölbchenversuche Gesagte) in seiner Zuverlässigkeit beeinträchtigt.

Vesuchsmethode und Versuchsobjekte.

Indem ich mich nunmehr zu meinen eigenen Untersuchungen wende, möchte ich zunächst Einiges über die Versuchsmethodik und die Versuchsobjekte vorausschicken.

Als Kulturmedium benutzte ich ausschließlich künstliche Nährlösungen, welche neben einer konstanten Menge von Mineralsalzen (0,1 Proz. K_2HPO_4 und 0,05 $MgSO_4$) verschiedene Kohlenstoff- und Stickstoffquellen in entsprechenden Konzentrationen enthielten. Die Konzentration der C-Quelle betrug gewöhnlich 1 Proz. Die organischen Säuren wurden als Natriumsalze angewandt und in allen Fällen für eine schwach alkalische Reaktion des Nährbodens gesorgt.

Für anaërobe Kulturen wurde dasselbe Verfahren benutzt, welches schon in meiner Arbeit über B. prodigiosum beschrieben worden ist, jedoch mit einigen Modifikationen, welche eine vollkommenere Entfernung des Sauerstoffs aus dem Kulturmedium bezwecken sollten. Die frisch sterilisierten und beimpften Kulturröhrchen wurden in einen Glascylinder mit verjüngtem Halse[2]) gestellt, in welchen vorher 10 ccm einer 5-proz. Pyrogallollösung eingegossen worden waren. Mit den Kulturröhrchen zusammen wurde noch ein kurzes Reagenzröhrchen in den Cylinder hereingestellt. In dieses Reagenzrohr wurde vor dem Evakuieren 10 ccm einer

---

1) Bei anderer Gelegenheit habe ich außerdem die Abhängigkeit der Anaërobiose vom Traubenzucker bei einigen zur Coli-Gruppe gehörenden Arten konstatiert (26. p. 344).

2) Der Inhalt des Cylinders betrug ca. $1/2$ l und bot für 12 Kulturröhrchen genügenden Raum.

$12\frac{1}{2}$-proz. KOH-Lösung[1]) einpipettiert. Dann wurde der Cylinder mit einem Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrung ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr ging, welches durch ein T-Rohr und dickwandige Gummischläuche einerseits mit der Wasserstrahlpumpe, andererseits mit dem Wasserstoffapparat verbunden werden konnte. Nach gründlichem Evakuieren des auf etwa 40° C erwärmten Gefäßes wurde gereinigter Wasserstoff eingeführt, dann wieder evakuiert und schließlich das Glasrohr abgeschmolzen[2]).

Um den Verschluß noch sicherer zu machen, umgab ich den Hals des Cylinders mit einer Hülse von starkem Papier, deren Rand die Oberfläche des Stopfens um einige Centimeter überragte, und füllte den über dem Stopfen gebildeten napfförmigen Hohlraum mit einer geschmolzenen Mischung von Siegellack und Terpentin. Erst nach vollständigem Verschluß des Kulturgefäßes wurde durch Neigen und vorsichtiges Schütteln die Aetzkalilösung aus dem vorhin erwähnten Röhrchen zum Ausfließen gebracht und mit dem Pyrogallol vermischt. Das entstandene Pyrogallat war öfters beinahe farblos, höchstens hellbraun und behielt seine Farbe während der ganzen Versuchszeit.

Zum Impfen wurden immer junge Agarstrichkulturen benutzt, von deren Oberfläche Spuren reinen Bakterienmaterials in die Nährlösungen übertragen wurden. Immer wurden zwei Kulturreihen angelegt: die einen aërob, die anderen anaërob. Beide hielt ich in einem Thermostaten bei 28—30° C.

Die Versuchsergebnisse waren gewöhnlich am 3.—4. Tage ganz klar; doch wurden die Kulturen immer 8—10 Tage im Thermostaten belassen und dann erst die evakuierten Gefäße unter entsprechenden Kautelen geöffnet, und die Kulturen einer makro- und mikroskopischen Prüfung unterworfen. Die schwach oder gar nicht entwickelten Kulturen wurden jedesmal zur Kontrolle in den Thermostaten (in aëroben Bedingungen) zurückgestellt. Nur unter Anwendung einer solchen doppelten Kontrolle lassen sich zuverlässige Resultate erhalten.

Als Versuchsobjekte dienten mir: Bacillus asterosporus A. Meyer, Bacterium vulgare (Proteus vulgaris), B. coli, B. prodigiosum, B. cloacae und eine von mir aus faulendem Fleischaufguß isolierte Species, welche ich als Bacterium α bezeichnen möchte[3]). Abgesehen von diesem letzteren, sind die angeführten Mikroorganismen aus Dr. Králs Laboratorium in Prag in Reinkulturen bezogen worden.

Es ist nicht ohne Interesse, zunächst den Umstand hervorzuheben, daß diese Bakterien in ernährungsphysiologischer Beziehung sich ziemlich verschieden verhalten. Tabelle I soll die Ansprüche veranschaulichen, welche dieselben bei aërober Lebensweise an das Nährsubstrat stellen. Die Zahlen bedeuten hier und in den folgenden Tabellen die Wachstumsintensität nach 10 Tagen bei 28°. In Anlehnung an eine ähnliche Bezeichnungsweise bei A. Fischer (12. p. 95) verstehe ich unter

1) Vergl. Omelianski (11. p. 711).

2) Samkow (9. p. 310), welcher mit einem ähnlich gebauten Apparat experimentierte, gibt an, daß er das Evakuieren und Wasserstoffeinleiten „nicht weniger als 100mal" wiederholte. Wenn aber die Wasserstrahlpumpe keinen Quecksilberunterbrecher hat, so ist der Erfolg dieser Bemühungen ein ganz illusorischer. Wichtiger ist es, durch Erwärmen des zu evakuierenden Gefäßes die Flüssigkeiten zum Aufkochen zu bringen. Das Pyrogallat kann dadurch beinahe farblos erhalten werden.

3) Dieses Bakterium zeigte in seinen morphologischen und physiologischen Eigenschaften eine große Aehnlichkeit mit B. cloacae, gehört also zur Gruppe der beweglichen „Coli"-Arten.

3 = bestes Wachstum (starke Trübung der Flüssigkeit, Bodensatz, Hautbildung),
2 = mittleres Wachstum,
1 = geringes, aber deutliches Wachstum,
1? = Wachstum fast 0, kaum bemerkbar,
0 = kein Wachstum.

Tabelle I.

Stickstoffquelle	Kohlenstoffquelle	B. asterosporus	B. vulgare	B. coli	B. prodigiosum	B. cloacae	B. α
Pepton (Witte)	Dextrose	3	3	3	3	3	3
„ „	Natriumcitrat	0	3	2	3	3	3
„ „	Pepton	0	3	2	3	3	3
Asparagin	Dextrose	2	1?	3	3	3	3
„	Asparagin	0	1?	3	3	3	3
Ammontartrat	Ammontartrat	0	0	1?	0	0	0
„	Dextrose	2	0	3	3	3	3
„	Galaktose	0	—	3	3	3	3
„	Saccharose	2	—	2	3	3	3
„	Laktose	2	—	3	3	3	3
„	Raffinose	2	—	3	3	3	3
„	Mannit	2	—	3	3	3	3
„	Inosit	0	—	2	3	3	3
„	Erythrit	0	—	2	3	2	1
„	Glycerin	1	—	3	3	3	3
Ammon	Citrat	0	—	1?	3	3	3
„	Malat	1?	—	3	3	3	3
„	Laktat	0	—	3	3	3	3
„	Succinat	0	—	2	2	3	3
Kaliumnitrat	Dextrose	1?	0	1	3	3	3

Freilich müßte man, um alle Unterschiede zu notieren, eine größere Skala anwenden, denn die Entwickelung des B. cloacae ist z. B. in Peptonzucker jedenfalls üppiger, als in Salpeterzucker. Doch ziehe ich es vor, der Einfachheit halber die von A. Fischer empfohlene Skala beizubehalten, da sie für unsere Zwecke vollkommen ausreicht.

Beim Betrachten der Tabelle I fällt nun zunächst das abweichende Verhalten des Bac. asterosporus auf. Während alle übrigen Bakterien das Pepton und (mit Ausnahme von B. vulgare) auch das Asparagin als Stickstoff- und zugleich als Kohlenstoffquelle benutzen können, ist B. asterosporus unfähig, seinen Kohlenstoffbedarf aus diesen Quellen zu schöpfen[1]). Aus der Tabelle II können wir außerdem ersehen, daß er in Bezug auf die Kohlenstoffquellen überhaupt ziemlich wählerisch ist. Neben verschiedenen Kohlehydraten sind es nur Mannit, Glycerin (nicht Glycerinsäure!) und Aepfelsäure, welche ihm eine ausgiebige Entwickelung gestatten, und zwar mit Pepton als bester Stickstoffquelle.

In direktem Gegensatz zu diesem Spaltpilz stehen die letzten drei: B. prodigiosum, B. cloacae und B. α. Sie gedeihen nicht nur auf Pepton oder Asparagin allein, sondern auch auf verschiedenen organischen Ammonsalzen. Auffallend ist aber die absolute Untauglichkeit der Wein-

1) Gottheil (13. p. 728) hat allerdings ein ganz schwaches Wachstum dieses Bacillus auf Pepton und Asparagin nach mehrwöchentlicher Kultur bemerkt. Daß aber nach 8—10 Tagen die Entwickelung noch = 0 ist, wird wohl seinen Beobachtungen nicht widersprechen.

säure als Kohlenstoffquelle. Daß sie auch bei anaërober Lebensweise nicht leistungsfähig ist, werden wir später sehen.

Uebrigens muß bemerkt werden, daß andere Bakterien sehr wohl Ammontartrat als C- und N-Quelle ausnutzen können, wie das ein einfacher Versuch — Stehenlassen einer unsterilisierten Lösung von Ammontartrat in Leitungswasser — zeigt. In einer solchen Lösung entwickelt sich bald eine üppige Bakterienvegetation.

B. vulgare ist, wie schon zur Genüge bekannt, ein echter Peptonspaltpilz.

Eine Mittelstellung zwischen B. asterosporus und den anspruchslosen B. cloacae und prodigiosum nimmt B. coli ein, dessen Eigentümlichkeiten wir noch später berücksichtigen werden [1]).

Die Kohlenstoffquellen bei fakultativer Anaërobiose.

Nach dieser vorläufigen Orientierung über die Ernährungsansprüche unserer Versuchsobjekte können wir zur Besprechung der in Tabelle II niedergelegten Versuchsresultate übergehen.

Die erste Aufgabe, die ich mir stellte, war die Untersuchung verschiedener Kohlenstoffquellen, welche bei bester Stickstoffernährung (d. h. bei Darreichung von Pepton) ein anaërobes Wachstum ermöglichten [2]). Selbstverständlich mußte ich mich zuerst davon überzeugen, daß Pepton allein für das anaërobe Wachstum meiner Bakterien nicht genügt. Für B. coli, prodigiosum, cloacae und vulgare war die Frage schon durch frühere Untersuchungen (2, 4, 5, 7) mehr oder weniger aufgeklärt, und B. asterosporus kam wegen seines eigentümlichen Verhaltens zum Pepton überhaupt nicht in Betracht. Ich habe es aber nicht versäumt, diese wichtigen Kontrollversuche mit allen Bakterien öfters zu wiederholen.

Das Resultat war immer ein ganz negatives; die Nährlösung blieb auch nach 14 Tagen vollkommen klar, trübte sich aber nach einigen Tagen, sobald die Kulturen an die Luft gebracht wurden [3]).

(Siehe Tabelle II p. 27.)

Hier, wie auch in allen übrigen Fällen, wo das Wachstum in anaërober Kultur ausgeblieben war, hatte das Verweilen im sauerstoff-

1) In der schon erwähnten, sehr instruktiven Tabelle von A. Fischer (l. c. p. 95) sind die Kohlen- und Stickstoffquellen für 8 metatrophe Bakterien, darunter auch B. coli und vulgare, zusammengestellt. Die Angaben über diese letzteren stimmen mit den meinigen so ziemlich überein; nur konnte ich keine Vergärung des Rohrzuckers durch mein B. coli konstatieren. Diese Fähigkeit kommt aber eben nicht allen Coli-Rassen zu, wie schon Th. Smith (3. p. 865) bemerkt hat. — In Pepton als C- und N-Quelle entwickelten sich alle von Fischer untersuchten Bakterien ausgezeichnet. B. asterosporus gehört also einem selteneren Typus an, welchem sich noch Bac. cuminatus und B. carotarum (Gottheil, 13. p. 491 u. 723), B. pabuli acidi (Weiss, 14. p. 8) und einige phosphoreszierende Bakterien (Beijerinck, 15. p. 253—355) anreihen lassen.

2) Ich beschränke mich hier auf die Untersuchung der Frage über Entwickelung der fakultativ anaëroben Bakterien in sauerstofffreien Medien. Ueber die unteren Grenzen des Sauerstoffdruckes, bei welchem ihr aërobes Wachstum noch stattfinden kann, soll später berichtet werden.

3) Da alle untersuchten Spaltpilze (außer B. asterosporus) schon auf Pepton allein ausgezeichnet aërob wachsen, so ist ein richtiges Urteil über die Verwertung der Kohlenstoffquellen in aëroben und anaëroben Kulturen natürlich nur durch Vergleich der in den Tabellen I und II mitgeteilten Resultate möglich. Wie aus Tabelle I leicht zu ersehen ist, sind z. B. Bernsteinsäure, Milchsäure, Glycerin, Inosit auch bei anorganischer N-Quelle (Ammon) ausgezeichnete C-Quellen in aëroben Verhältnissen; sie versagen aber vollständig (mit einer einzigen Ausnahme: B. coli auf Glycerin) in anaëroben Kulturen, wie ein Blick auf Tabelle II lehrt.

Tabelle II[1]).

Stickstoffquelle		Kohlenstoffquelle	B. asterosporus	B. vulgare	B. coli	B. prodigiosum	B. cloacae	B. α
Pepton 1 Proz.		Dextrose	3 (3)	3 (3)	3 (3)	2 (3)	3 (3)	3 (3)
		Lävulose	3 (3)	1 (3)	3 (3)	2 (3)	3 (3)	3 (3)
		Laktose	3 (3)	0 (3)	3 (3)	1? (3)	2 (3)	3 (3)
		Maltose	3 (3)	1 (3)	3 (3)	2 (3)	2 (3)	3 (3)
		Saccharose	3 (3)	2 (3)	1? (2)	2 (3)	3 (3)	3 (3)
		Raffinose	3 (3)	1? (3)	0 (2)	1 (3)	3 (3)	3 (3)
		Arabinose	3 (3)	0 (3)	3 (3)	1 (3)	3 (3)	3 (3)
		Mannit	3 (3)	1? (3)	3 (3)	2 (3)	3 (3)	3 (3)
		Erythrit	0 (0)	0 (3)	1 (2)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Glycerin	1? (3)	0 (3)	1 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Inosit	0 (0)	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
	als Natriumsalze	Chinasäure	0 (0)	0 (3)	1? (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Weinsäure	0 (0)	0 (3)	1? (2)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Citronensäure	0 (0)	0 (3)	0 (2)	2 (3)	3 (3)	3 (3)
		Aepfelsäure	2 (2)	2 (3)	1 (2)	2 (3)	2 (3)	2 (3)
		Milchsäure	0 (0)	0 (3)	0 (2)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Bernsteinsäure	0 (0)	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
		Pepton	0 (0)	0 (3)	0 (2)	0 (3)	0 (3(	0 (3)
		Leucin	0 (0)	0 (3)	0 (2)	0 (3)	0 (3)	0 (3)

freien Raume keinen merklichen Einfluß auf die Entwickelungsfähigkeit der Bakterien ausgeübt. An die Luft gebracht, zeigten solche Kulturen in kurzer Zeit eine ganz normale Entwickelung. Diese Kontrollkulturen wurden immer mikroskopisch und von Zeit zu Zeit auch durch das Plattenverfahren auf ihre Reinheit geprüft. Dadurch und außerdem durch den Vergleich mit den aërob angelegten Kontrollkulturen konnte ich die Richtigkeit der erhaltenen Resultate außer jeden Zweifel setzen.

Was die Zahl der geprüften Kohlenstoffquellen anbetrifft, so ist sie nicht besonders groß und könnte natürlich leicht verdoppelt und verdreifacht werden. Es kam mir aber hauptsächlich darauf an, die Repräsentanten der drei Haupttypen: Kohlehydrate, Alkohole und organische Säuren auf ihren Nährwert bei der Anaërobiose zu prüfen.

Von den Kohlehydraten hätten eigentlich noch einige Polysaccharide berücksichtigt werden können; nach den Erfahrungen aber, welche ich an B. prodigiosum und Omelianski an B. formicicum gemacht haben, läßt sich jedenfalls sagen, daß die Polysaccharide im allgemeinen schlechter als die Mono- und Disaccharide ausgenutzt werden. Wie ein Blick auf die Tabelle II lehrt, ist das Trisaccharid Raffinose weniger günstig, als die drei Disaccharide, und diese letzteren bleiben wiederum hinter den Monosacchariden zurück.

Die Hexosen haben einen entschiedenen Vorrang vor der einzigen von mir geprüften Pentose.

Von den höheren Alkoholen ist Mannit beinahe ebensogut assimilierbar, wie die Hexosen; Erythrit und Glycerin sind dagegen ganz untauglich, denn mit Ausnahme des B. coli zeigte keiner von den übrigen Spaltpilzen ein merkbares anaërobes Wachstum auf diesen C-Quellen. Dasselbe läßt sich auch über Bernstein-, Milch-, Wein- und Chinasäure sagen. Dagegen ist Zitronensäure für die Hälfte, Aepfelsäure für alle eine gute Energiequelle bei anaërobem Wachstum.

1) Die nicht eingeklammerten Zahlen bedeuten die Wachstumsintensität der anaëroben, die danebenstehenden eingeklammerten diejenige der aëroben Kulturen.

Die beiden zyklischen Verbindungen — Chinasäure und Inosit — sind trotz ihrer sechs OH-Gruppen ganz unfähig, das anaërobe Wachstum zu fördern. Diese Tatsache, und auch das Verhalten der hydroxylierten organischen Säuren zeigt uns, daß der Wert der Kohlenstoffquelle in diesem Falle nicht einfach durch die Zahl der OH-Gruppen bestimmt wird ein Schluß, wie er auf Grund einer einseitigen Berücksichtigung der Kohlehydrate leicht gemacht werden könnte.

Nicht hydroxylierte Verbindungen vermögen allerdings nicht die fakultative Anaërobiose zu fördern. Bernsteinsäure, Leucin, auch Asparagin unterziehen sich dieser Regel [1]).

Das Asparagin gibt uns übrigens einen willkommenen Anhaltspunkt, um einen Vergleich zwischen unseren fakultativ anaëroben und den bekannteren obligat anaëroben zu ziehen. O. Loew (16. p. 757) behauptet nämlich, daß Asparagin der einzige von Hydroxylgruppen freie Körper sei, welcher Bakterien bei Luftabschluß ernähren könne. Was für Bakterien er dabei im Auge hat, bleibt unbekannt; vermutlich sind es obligat-anaërobe Spaltpilze, doch vermisse ich jede sonstigen Angaben über dergleichen Organismen in der bakteriologischen Literatur. In seiner neuesten Zusammenfassung (17. p. 39 u. 40) macht O. Loew auch keine weiteren Angaben über die Assimilierbarkeit des Asparagins bei Luftabschluß. Abgesehen von diesem noch näher aufzuklärenden Falle können wir eine große Analogie zwischen obligat und fakultativ anaëroben Bakterien feststellen.

Eine Einzelstellung beanspruchen allerdings die zur Gruppe der eiweißspaltenden Mikroben gehörenden obligaten Anaërobier, welche auf Pepton allein (als C- und N-Quelle) fortkommen und diesen Körper energisch zersetzen. (Beispiele bei Beijerinck, 18. p. 403) [2]).

Die übrigen obligat-anaëroben Bakterien sind aber ebenso wie die fakultativen auf hydroxylierte ternäre Kohlenstoffverbindungen angewiesen. Von den zahlreichen Beispielen seien die von Chudjakow (19. p. 42 ff.) ausführlich studierten buttersäurebildenden Clostridium und Bactridium butyricum angeführt. Sie wachsen auf einer Pepton-Nährsalzlösung nur dann, wenn ihr eine von den folgenden Verbindungen zugesetzt ist: Dextrose, Rohrzucker, Maltose, Stärke, Milchzucker, Dextrin, Mannit. Die übrigen geprüften Körper (20 an der Zahl, darunter auch Glycerin, Aepfel-, China-, Wein- und Milchsäure) genügen nicht dazu.

Wenn wir nun in dieser Beziehung eine unverkennbare Analogie zwischen fakultativ und obligat anaëroben Bakterien feststellen können, so müssen wir doch andererseits einen Unterschied hervorheben. Die fakultativ anaëroben Spaltpilze sind nämlich in Bezug auf ihre Kohlenstoffversorgung nicht so wählerisch und nicht so streng spezialisiert, wie die obligat anaëroben. So können die eben erwähnten Erreger der Buttersäuregärung nur Kohlehydrate und Mannit, aber keine organischen Säuren assimilieren; die Vergärung der milchsauren Salze wird bekanntlich von einer besonderen Art (Granulobacter lactobutyricum

---

1) Ueber den eigentümlichen Einfluß, welchen die Anwesenheit von Nitraten in der Nährlösung hat, vergleiche man den folgenden Abschnitt.

2) Entsprechend angesetzte Anhäufungsversuche liefern bei Infektion mit Gartenerde, Mist etc. eine üppige Bakterienflora; vorherrschend finden sich bewegliche Stäbchen mit endständigen Sporen (Trommelschlägerform). Der echte B. tetani vermag ebenfalls auf Pepton allein zu wachsen. (Chudjakow, 19. p. 69 ff.)

Beijerinck) verursacht. Die von mir untersuchten fakultativen Anaërobier kommen dagegen sämtlich auch auf Aepfelsäure, zum Teil auch auf Zitronensäure fort.

Dabei werden diese Säuren von B. cloacae und B. α unter Gasbildung zersetzt, so daß man von einer „Vergärung" derselben sprechen könnte. Auch auf allen anderen Substraten, welche eine gute anaërobe Entwickelung meiner Bakterien gestatteten, war eine mehr oder weniger intensive Gasproduktion zu bemerken[1]). Doch möchte ich vorläufig auf allgemeinere Schlußfolgerungen in Bezug auf „Vergärung" der Kohlenstoffverbindungen durch meine Bakterien verzichten. Dazu sind noch eingehende spezielle Untersuchungen notwendig[2]).

Die Stickstoffquellen bei fakultativer Anaërobiose.

Nachdem wir die Kohlenstoffquellen der fakultativ anaëroben Bakterien bei bester Stickstoffernährung kennen gelernt haben, können wir uns der Frage über den Einfluß der Stickstoffquelle zuwenden.

Meine in dieser Richtung vorgenommenen Versuche beschränken sich auf drei Stickstoffquellen von allgemeinerer Bedeutung: Asparagin, Ammonsalze und Nitrate[3]).

Ich glaube nicht, daß Versuche mit anderen Stickstoffquellen, z. B. verschiedenen Aminosäuren, etwas an den erhaltenen Resultaten ändern dürften.

Was nun das Asparagin und die Ammonsalze anbetrifft, so hat es sich herausgestellt, daß ihnen ein besonderer Einfluß auf das anaërobe Wachstum nicht zugesprochen werden kann.

Wenn z. B. Ammonsalze für die aërobe Entwickelung eines Spaltpilzes genügen, so werden sie (natürlich in Verbindung mit einer geeigneten Kohlenstoffquelle) meistens auch für seine anaërobe Entwickelung ausreichen.

Die Unterschiede, welche sich in den aëroben Kulturen auf besseren und schlechteren Stickstoffquellen geltend machen, kommen natürlich auch in den anaëroben zum Vorschein, doch konnte ich nur ausnahmsweise finden, daß eine Kohlenstoffquelle, welche bei Peptonzusatz anaërob ernährt, mit Ammonsalzen in denselben Bedingungen ganz versagen sollte.

Mit Asparagin habe ich nur zwei Versuchsreihen gemacht (Dextrose und Laktose). Die Resultate entsprachen vollkommen denjenigen, welche sich auf peptonhaltigen Lösungen ergeben hatten. (Vergl. Tabelle II.)

Deshalb ging ich direkt zu den Ammonsalzen über, und prüfte zunächst die scheinbar ungünstigste Kombination, nämlich Ammonmalat und -citrat ohne weitere Zugaben. B. cloacae und α ergaben ganz unzweideutige Resultate; ihr anaërobes Wachstum erwies sich nicht von der Stickstoffquelle, sondern einzig und allein von der Kohlenstoffquelle abhängig. Weitere Versuche wurden mit anderen Kohlenstoffquellen gemacht (Dextrose, Saccharose, Laktose Raffinose, Mannit, Inosit). Das Ammonium wurde dabei als Tartrat in $\frac{1}{2}$-proz. Lösung angewandt, da

1) Nur B. prodigiosum bildete eine Ausnahme.

2) Solche sind z. B. für B. coli von Péré, Harden u. A. gemacht worden. Vergl. die Zusammenstellung bei Emmerling (20. p. 42—45).

3) B. vulgare, welches Asparagin und Ammonsalze als N-Quelle nicht gebrauchen kann, mußte von diesen Versuchen ausgeschlossen werden. B. asterosporus wurde nur auf Asparagin geprüft, da seine Entwickelung auf Ammonsalzen auch in aëroben Kulturen keine starke ist.

in einer Ammontartratlösung selbst bei Luftzutritt nur B. coli Spuren von Entwickelung, die anderen Bakterien gar kein Wachstum zeigten, und da die Weinsäure auch bei Peptonzusatz die Anaërobiose unserer Bakterien nicht fördert. (Vergl. Tabelle I u. II.)

Tabelle III[1]).

Stickstoffquelle	Kohlenstoffquelle	B. coli	B. prodigiosum	B. cloacae	B. α
Ammontartrat	Dextrose	3 (3)	2 (2)	3 (3)	3 (3)
"	Saccharose	0 (1?)	2 (2)	2 (3)	2 (3)
"	Laktose	3 (3)	0 (1?)	2 (2)	3 (3)
"	Raffinose	0 (0)	1 (1)	3 (3)	3 (3)
"	Mannit	3 (3)	2 (2)	3 (3)	3 (3)
Ammon	Malat	1 (2)	1? (2)	2 (2)	2 (2)
"	Citrat	0 (0)	1 (2)	3 (3)	3 (3)

Die Resultate sind in der Tabelle III zusammengestellt, wobei vergleichshalber auch die entsprechenden Daten über anaërobe Entwickelung bei Peptonernährung in Klammern beigefügt sind. Man sieht, daß auf B. cloacae und α (welche von allen von mir untersuchten Mikroben überhaupt die ausgesprochenste Fähigkeit zur Anaërobiose zeigten) die Stickstoffquelle in der Tat keinen merklichen Einfluß ausübt. B. coli und prodigiosum verhalten sich auch ziemlich indifferent, solange es sich um vorzügliche Kohlenstoffquellen, wie die Kohlehydrate handelt, und nur in Verbindung mit organischen Säuren erweist sich das Ammonium als minderwertig[2]).

Der Einfluß der Nitrate und Nitrite.

Was die Nitrate als Stickstoffquelle anbetrifft, so nehmen sie, wie schon früher erwähnt, eine Sonderstellung ein.

Der Zusatz von Nitraten erlaubt nämlich den fakultativ anaëroben Bakterien auch auf solchen Substraten anaërob zu wachsen, welche sonst dazu nicht geeignet sind.

Am schlagendsten geht das aus Versuchen mit Pepton, Asparagin und milchsaurem Ammonium hervor. Jeder von diesen drei Körpern ist, wie aus dem Vorstehenden erinnerlich, ein ausgezeichneter Nährstoff in aëroben Bedingungen für B. coli, prodigiosum, cloacae und α. In anaëroben Kulturen versagen sie dagegen vollständig. Nun genügt es aber, jeder von den drei Nährlösungen 0,3—0,5 Proz. Salpeter zuzusetzen, um eine ganz gute anaërobe Entwickelung unserer Bakterien auf diesen Substraten zu bekommen.

Diese Erscheinung steht offenbar mit der Fähigkeit der untersuchten Bakterien Nitrate zu Nitriten zu reduzieren, im Zusammenhang. Bei dieser Reduktion wird Sauerstoff vom Nitratmolekül abgespalten und sofort von den Bakterien veratmet. Diese Tatsachen reihen sich denjenigen

1) Die nicht eingeklammerten Zahlen bedeuten die Wachstumsintensität der anaëroben Kulturen mit Ammonstickstoff, die eingeklammerten die Wachstumsintensität ebensolcher Kultur mit Peptonstickstoff.

2) Uebrigens kann die Stickstoffquelle einen ganz bedeutenden Einfluß auf den Charakter des Stoffwechsels ausüben, wie die Untersuchungen von Péré (21. p. 70) über Vergärung der Glukose durch B. coli bei Pepton und Ammoniakernährung zeigten.

an, welche schon früher von Jensen (22. p. 404—405) für echte Denitrifikationsbakterien gefunden worden sind.

Während aber letztere nach Weissenberg (23. p. 170) auch mit Nitriten anaërob wachsen können, geht diese Fähigkeit den von mir untersuchten Bakterien ab, wie ich mich durch spezielle, mehrmals wiederholte Versuche überzeugen konnte.

Uebrigens ist die Frage über anaërobes Wachstum auf nitrithaltigen Substraten noch nicht vollkommen aufgeklärt. Weissenberg (l. c.) behauptet die Möglichkeit einer üppigen Entwickelung des B. pyocyaneum auf nitrithaltiger Bouillon, Takahashi (24) dagegen konnte weder bei B. pyocyaneum, noch bei anderen Bakterien (B. subtilis, mesentericus vulgatus, mesentericus fuscus, B. acidi lactici, Proteus mirabilis, B. typhi murium) eine nennenswerte Entwickelung auf solchem Substrate beobachten. Diese Widersprüche veranlaßten mich, die Frage einer experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Wie in meinen früheren Versuchen, so auch hier habe ich statt der leider noch immer so beliebten „Bouillon“ ausschließlich Mineralsalzlösungen mit bestimmten Kohlen- und Stickstoffquellen benutzt. Als Objekte dienten mir erstens B. pyocyaneum Gessard, sodann B. Stutzeri und ein energisch denitrifizierender Spaltpilz, welcher zu der Gruppe der fluoreszierenden, Gelatine nicht verflüssigenden Arten gehörte. Ich glaube ihn mit dem B. denitrofluorescens van Iterson (25a. p. 146) identifizieren zu können, soweit das die leider sehr kurze Beschreibung des Verf. zuläßt[1]).

Um eine sichere Grundlage für die Beurteilung meiner Versuchsresultate zu erlangen, hielt ich es zunächst für notwendig, die Fähigkeit der drei Arten zur Anaërobiose in normalen, nitrat- und nitritfreien Substraten zu prüfen. Diese Prüfung erschien mir um so erwünschter, als ich eine klare Erörterung dieser Frage in den vorhin zitierten Arbeiten durchaus vermißt habe. Aus der Tatsache nämlich, daß B. Stutzeri centropunctatum, pyocyaneum und andere Denitrifikationsbakterien auf Bouillon ohne Nitrat oder Nitrit anaërob nicht wachsen (Jensen u. Weissenberg, l. c.), darf man noch nicht ohne weiteres schließen, daß diese Spaltpilze obligat aërob seien. Um diese Frage zu entscheiden, muß man anaërobe Kulturen mit entsprechenden Kohlenstoffquellen ansetzen. Auf Grund meiner Erfahrungen an typischen fakultativ anaëroben Bakterien wählte ich als solche Dextrose, Mannit und Natriummalat. Als Stickstoffquelle wurde Pepton benutzt.

Die anaëroben Kulturen wurden nach der oben beschriebenen Methode ausgeführt und immer doppelt kontrolliert. Das Resultat war für alle drei Arten ein und dasselbe: die denitrifizierenden Bakterien konnten auch bei günstigsten Ernährungsbedingungen anaërob nicht wachsen; sie gehören somit zu den obligat aëroben Spaltpilzen.

Dieses Verhalten ändert sich aber, sobald der Nährlösung Nitrat oder Nitrit zugesetzt wird. Die verschiedensten Kohlenstoffquellen werden von diesen (und wohl auch von anderen) Denitrifikationsbakterien anaërob

1) Die beiden letzteren Spaltpilze habe ich aus Gartenerde isoliert, B. Stutzeri nach der von van Iterson (25. p. 109) angegebenen Anhäufungsmethode, B. denitrofluorescens dagegen durch Anhäufungsversuche in Lösungen von 0,5-proz. Natriumcitrat und 0,2-proz. Kaliumnitrit.

verwertet, sobald Nitrat (0,5 Proz. KNO_3) der Nährlösung zugesetzt wird. Am besten scheinen ihnen die organischen Säuren (Aepfel-, Zitronen- und Milchsäure) zuzusagen [1].

Was dagegen die Nitrite anbetrifft, so konnte ich allerdings einen analogen Einfluß auf B. Stutzeri und denitrofluorescens feststellen; B. pyocyaneum dagegen entwickelte sich in keiner einzigen anaëroben Nitritkultur. Als Kohlenstoffquellen benutzte ich verschiedene Kohlehydrate und organische Säuren mit und ohne Pepton. Das Resultat war immer gleich: ausgezeichnete Entwickelung und Denitrifikation in aëroben, keine Spur von Wachstum in anaëroben Kulturen.

Meine Befunde in Bezug auf B. pyocyaneum stimmen also mit denjenigen von Takahashi überein und widersprechen den Weissenbergschen. Den Grund dafür vermag ich nicht anzugeben und begnüge mich damit, die Tatsache festzustellen, daß B. Stutzeri und B. denitrofluorescens sowohl in nitrat-, als auch in nitrithaltigen Nährlösungen anaërob wachsen können, B. pyocyaneum dagegen nur in nitrathaltigen.

Abgesehen von diesen speziellen Bedingungen, sind diese Bakterien (und wohl auch die anderen denitrifizierenden Arten) durchaus aërob.

Zum Schluß möchte ich die Hauptresultate dieses Teils meiner Arbeit kurz zusammenfassen:

1) Das anaërobe Wachstum der fakultativ anaëroben Bakterien ist nur in Gegenwart bestimmter Kohlenstoffquellen möglich. Dieses sind: a) Kohlenhydrate, b) einige höhere Alkohole, c) einige hydroxylierte organische Säuren.

2) Die Zahl der Hydroxyle ist dabei nicht maßgebend.

3) Zyklische Verbindungen (Chinasäure, Inosit) können die obengenannten Verbindungen nicht vertreten.

4) Die Stickstoffquelle hat für das anaërobe Wachstum unserer Bakterien eine untergeordnete Bedeutung.

5) Nitrate ermöglichen eine anaërobe Entwickelung auch auf solchen Kohlenstoffquellen, welche sonst dazu ungeeignet sind.

6) Nitrite können die Nitrate in dieser Hinsicht nicht ersetzen.

7) Die denitrifizierenden Bakterien wachsen auf nitrat- und nitritfreien Substraten als echte Aërobier.

8) Die Gegenwart von Nitraten befähigt alle, diejenige von Nitriten einige von den untersuchten Denitrifikationsbakterien zu temporärer Anaërobiose.

II. Die Aërotaxis der fakultativ-anaëroben Bakterien.

In einer früheren Arbeit (26) habe ich die Abhängigkeit des Bewegungsvermögens einiger fakultativ-anaëroben Bakterien vom freien Sauerstoff ausführlich untersucht. Die Resultate dieser Arbeit machten mich natürlicherweise auch auf andere, das Sauerstoffbedürfnis der Bakterien betreffende Fragen aufmerksam, und schon damals stellte ich eine Reihe von Versuchen über die Aërotaxis der fakultativ-anaëroben

---

1) B. pyocyaneum wächst auch auf essigsaurem Natrium und auf Asparagin.

Bakterien an. Während aber diese Versuche noch im Gange waren, erschien die schon zitierte Arbeit von Beijerinck (18), in welcher unter anderem auch dieses Thema kurz behandelt wird. Dieser Umstand hat mich längere Zeit davon abgehalten, meine Resultate, welche den Beijerinckschen gegenüber nicht viel Neues bieten, zu veröffentlichen. Wenn das jetzt trotzdem geschieht, so leitet mich dabei hauptsächlich der Wunsch, auf den Zusammenhang einiger physiologischer Erscheinugen hinzuweisen, welcher meines Wissens noch nicht genügend beachtet worden ist.

Zunächst möchte ich die Resultate meiner obenerwähnten Arbeit kurz zusammenfassen:

1) Die fakultativ anaëroben Bakterien zeigen bei Sauerstoffabschluß ein ziemlich verschiedenes Verhalten, bei einigen Arten hört die Bewegung beinahe augenblicklich auf (ganz wie bei exquisit aëroben), bei anderen kann sie stundenlang bei denselben Bedingungen anhalten.

2) Schließlich hört die Bewegung dennoch auf; auch anaërob gezüchtete fakultativ-anaërobe Arten vermehren sich wohl bei Sauerstoffabschluß, bleiben aber dabei unbeweglich; durch Zuleitung minimaler Sauerstoffmengen wird die Beweglichkeit wieder hergestellt.

3) Bestimmte Kohlenstoffquellen (Kohlehydrate) sind nicht nur eine notwendige Bedingung für anaërobes Wachstum dieser Bakterien, sondern auch ein Mittel, die Dauer ihrer Beweglichkeit im sauerstofffreien Raume bedeutend zu verlängern.

Diese Resultate führen uns zu folgender Fragestellung: 1) Ist zwischen Fähigkeit der Bakterien, sich längere Zeit bei Sauerstoffabschluß zu bewegen und ihrer Aërotaxis (oder „Aërophilie") ein bestimmter Zusammenhang vorhanden? 2) Hat die Ernährung mit verschiedenen Kohlenstoffquellen einen Einfluß auf den Charakter der Aërotaxis?

Diese Fragen sind von Beijerinck nicht berührt worden. Er gibt nur an, daß die fakultativ anaëroben Bakterien eine Atmungsfigur nach Aërobentypus bilden [1]).

Ich kann dieses Resultat auf Grund zahlreicher Versuche mit einer ganzen Reihe von fakultativ anaëroben Bakterien im allgemeinen bestätigen. Sowohl diejenigen Arten, welche nur wenige Minuten bei Sauerstoffmangel umherschwärmen, als auch solche, welche stundenlang dabei beweglich bleiben, bilden eine Ansammlung am Rande des Meniskus [2]). Dem gewöhnlichen Sauerstoffdruck gegenüber sind sie prosaërotaktisch, ganz wie die exquisit aëroben Bakterien.

Einige kleine Abweichungen kommen allerdings vor. Bakterien, welche längere Zeit anaërob beweglich bleiben, bilden die Atmungsfigur nicht so schnell und nicht so scharf aus, wie die Bakterien der anderen Gruppe. Die Anhäufung selbst ist oft, wie schon Beijerinck bemerkt,

1) Die Methode der Atmungsfiguren (Beijerinck. 27) darf ich als allgemein bekannt voraussetzen. Alle weiter mitgeteilten Versuche über Aërotaxis sind nach Beijerincks Methode ausgeführt worden.

2) Zum ersten Typus gehört B. prodigiosum, vulgare und einige andere, z. B. der von mir früher erwähnte (25. p. 337), subtilisähnliche, fakultativ anaërobe Bacillus. Zum zweiten Typus gehören die ebenfalls a. a. O. (p. 339 ff.) erwähnten, aus Milch etc. isolierten Bakterien, sowie auch B. cloacae und α. Spir. Finkler-Prior und B. asterosporus nehmen eine Mittelstellung ein. Letzterer vermag nur 10—15 Minuten nach Sauerstoffabschluß herumzuschwärmen, wobei die Bewegungsintensität schon nach 5—7 Minuten bedeutend abnimmt. Daß die verschiedene Bewegungsdauer der Bakterien nicht durch verschieden schnelle Absorption des Sauerstoffs erklärt werden kann, habe ich früher erwiesen (l. c. p. 337—338).

ziemlich breit, und die Gruppe zwischen den beweglichen und unbeweglichen Bakterien nicht so scharf markiert, wie bei den Aëroben.

Größere Abweichungen vom Aërobentypus habe ich in zwei Fällen beobachtet. Der erste betrifft B. cloacae und B. α, der zweite die in meiner ersten Arbeit (l. c. p. 339) erwähnten, No. 1 u. 2.

B. cloacae und α bilden, wie man bei genauer Untersuchung mit der Lupe und auch mit dem Mikroskop feststellen kann, öfters eine Ansammlung in einem gewissen, sehr kleinen Abstande vom Rande des Meniskus, d. h. eine „Vibriofigur" (nach Beijerinck). Doch ist diese Figur lange nicht so deutlich, wie z. B. die von B. pyocyaneum gebildete Figur nach Vibrionentypus. Außerdem lehrt aber die mikroskopische Untersuchung, daß auch am Rande des Meniskus eine feine Ansammlung lebhaft beweglicher Bakterien besteht. Das Vorhandensein dieser zwei Ansammlungen läßt die Gegenwart zweier physiologischer Rassen in der Reinkultur vermuten. Ich habe auch versucht, diese Rassen zu isolieren, doch haben diese Versuche bis jetzt zu keinem befriedigenden Resultate geführt.

Wenn in diesem Falle eine Annäherung an einen bekannten Typus von Atmungsfiguren beobachtet werden konnte, so ist mir andererseits ein Fall begegnet, welcher von den bekannten Typen der Atmungsfiguren ziemlich stark abweicht.

Dieser anomale Typus wurde bei der Prüfung einer Frage aufgefunden, welche sich unmittelbar an die Resultate meiner früheren Arbeit anschloß. Wie schon erwähnt, können gewisse fakultativ anaërobe Spaltpilze in zuckerhaltigen Nährlösungen viel längere Zeit anaërob beweglich bleiben, als in zuckerfreien (l. c. p. 338—343). Es schien mir deshalb interessant zu prüfen, ob die Ernährung irgend einen Einfluß auch auf den Charakter der Aërotaxis ausübt, in dem Sinne, daß vielleicht bei Zuckerzusatz die Atmungsfigur sich vom Aërobentypus ablenken und etwa dem Spirillentypus zuneigen würde, daß die Bakterien bis zu einem gewissen Grade „mikroaërophil" werden sollten.

Entsprechend ausgeführte Versuche zeigten jedoch, daß der Aërobentypus gewöhnlich (bis auf einen Ausnahmefall) auch in zuckerhaltigen Nährlösungen zum Vorschein kommt; die Wirkung des Zuckers äußert sich nur darin, daß die Atmungsfigur erst nach einem längeren Zeitraum ausgebildet wird, als in Parallelversuchen mit zuckerfreien Lösungen[1]). So entsteht z. B. die Atmungsfigur bei

B. vulgare	in Peptonlösung nach 20—30 Min.;
	in P. + Zucker nach 1 Stunde,
Spir. Finkler	in Peptonlösung nach 10—15 Min.;
	in P. + Zucker nach 40 Min.,
Bacterium No. 2[2])	in Peptonlösung nach 7—15 Min.;
	in P. + Zucker nach 45—60 Min.

Das zuletzt erwähnte B. No. 2 war es auch, das in den ersten Monaten nach seiner Reinzüchtung (es wurde von der Oberfläche von Gerstensamen isoliert) eine auffallende Anomalie in seinen Atmungsfiguren zeigte. Fig. 2 zeigt uns, worin die Eigentümlichkeit dieser Atmungsfigur besteht und wodurch sie sich von dem normalen Aërobentypus (Fig. 1) unterscheidet.

1) Natürlich muß dafür gesorgt werden, daß sowohl die Größe der Flüssigkeitstropfen, als auch die Menge der darin verteilten Bakterien in allen Parallelversuchen gleich bleibe.

2) 25. p. 339.

Weitaus die meisten beweglichen Bakterien bilden eine ziemlich breite, dichte Ansammlung am Rande der Flüssigkeit (Fig. 2, *a*). Der Raum *r* ist durchsichtig, und im Gegensatz von Fig. 1 von Bakterien beinahe frei. Eine Grenzlinie zwischen beweglichen und unbeweglichen Individuen, wie sie beim Aërobentypus (Fig. 1, *f*) zu sehen ist, fehlt durchaus.

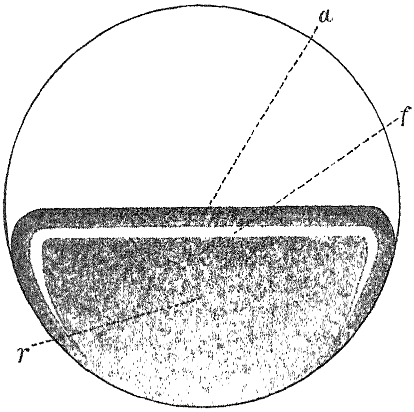


Fig. 1.

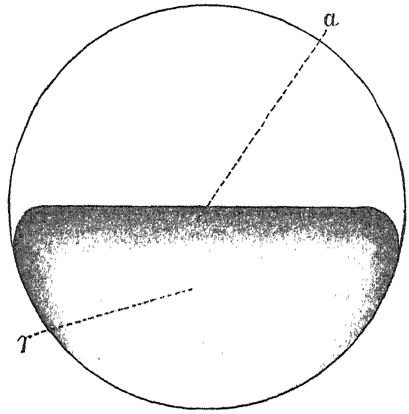


Fig. 2.

Fig. 1. Aërobentypus nach Beijerinck.
Fig. 2. Anomaler Aërobentypus.

Diese Figur bildete sich nach 10—20 Min. nur in zuckerhaltigen Nährlösungen aus; auf zuckerfreien entstand dagegen eine Atmungsfigur nach Aërobentypus. Nach einjähriger Zucht auf Nähragar war die Fähigkeit zur Bildung dieser normalen Figur verschwunden; der Unterschied zwischen zuckerhaltigen und zuckerfreien Nährlösungen äußerte sich nur darin, daß in ersteren die Ausbildung der Atmungsfigur längere Zeit auf sich warten ließ, als in letzteren.

Fragen wir uns nach den Ursachen, welche die Bildung dieser anomalen Atmungsfigur veranlassen, so müssen wir folgendes berücksichtigen. Erstens besitzt das B. No. 2 die Fähigkeit zu lange andauernder, lebhafter Bewegung in sauerstofffreien Medien[1]); zweitens eine stark ausgeprägte Prosaërotaxis. Während die aëroben Bakterien ihrem Bestreben, den Flüssigkeitsrand zu erreichen, nur teilweise nachkommen können, in ihrer Hauptmasse dagegen schon nach wenigen Minuten starr und unbeweglich im Raume *r* (Fig. 1) liegen bleiben, folgen unsere fakultativ anaëroben dem vom Rande ausgehenden aërotaktischen Reiz, unbekümmert um den sich im Raume *r* bald einstellenden Sauerstoffmangel.

Dieser Typus (den ich als anomalen Aërobentypus bezeichnen möchte) ist mir, wie schon erwähnt, nur bei einer einzigen fakultativ anaëroben Bakterienart begegnet, und zwar in der ersten Periode ihres Laboratoriumlebens. Es unterliegt aber keinem Zweifel, daß diese anomale Atmungsfigur bei jeder fakultativ anaëroben Bakterienart angetroffen werden muß, welche die Fähigkeit zu möglichst langer und lebhafter Eigenbewegung im sauerstofffreien Raume besitzt.

1) l. c. p. 340, Tabelle II; eine Abschwächung der äußerst lebhaften Eigenbewegung erfolgte nach Sauerstoffabschluß erst nach 1 Stunde bei Zuckergegenwart, und nach 20 Min. in Leitungswasser.

Als allgemeines Ergebnis aller Versuche über die Aërotaxis der fakultativ anaëroben Bakterien können wir jedenfalls die Behauptung aufstelllen, daß auch die typischen Vertreter dieser Gruppe prosaërotaktisch und keineswegs mikroaërophil (nach Art der Spirillen) sind. Bekanntlich bilden andererseits viele in ihrem Wachstum echt aërobe Spaltpilze (die meisten Spirillen, auch B. Stutzeri u. a.) eine Atmungsfigur nach Spirillentypus aus, sind also in dieser Beziehung mikroaërophil.

Ohne diesen Erscheinungen eine tiefere Erklärung geben zu können, möchte ich nur auf einige Tatsachen aufmerksam machen, welche meiner Ansicht nach in einem gewissen Zusammenhang mit den geschilderten Eigentümlichkeiten der fakultativ-anaëroben und aëroben Bakterien stehen müssen.

Aus der Arbeit von Porodko (27. p. 43) erfahren wir nämlich, daß die Verteilung der maximalen, für die Entwickelung verschiedener Mikroorganismen zulässigen Sauerstoffspannungen ein ganz eigentümliches Bild zeigt.

Die höchsten Spannungen werden nicht von aëroben Bakterien und Spirillen, sondern von fakultativ anaëroben (wie B. prodigiosum, B. vulgare, B. coli u. s. w.) vertragen.

Andererseits erweisen sich Spirillum volutans, B. cyanogenus, B. bruneum und B. pyocyaneum hohen Sauerstoffspannungen gegenüber als besonders empfindlich.

Nun haben wir aber schon gesehen, daß die Atmungsfiguren der fakultativ anaëroben Bakterien keine Spur von Mikroaërophilie zeigen; andererseits sind gerade Sp. volutans, cyanogenes und pyocyaneum mehr oder weniger mikroaërophil. Ersteres bildet eine schöne Atmungsfigur nach Spirillentypus, B. cyanogenes und pyocyaneum-Ansammlungen nach Vibrionentypus [1]). Der Zusammenhang dieser Erscheinungen ist ein unverkennbarer; freilich müßte man, um sichere Schlüsse zu ziehen, über eine bedeutend breitere experimentelle Basis verfügen, als die zur Zeit vorhandene.

Zum Schluß möchte ich noch kurz die Frage über die Mikroaërophilie der obligat anaëroben Bakterien berühren. Beijerinck hat, wie bekannt, seine früheren Ansichten über die Atmungsfiguren der obligat anaëroben Bakterien (27) in einer späteren Arbeit (28) modifiziert. Diese Bakterien sollen nicht, wie er früher meinte, den Luftsauerstoff unbedingt fliehen, und sich im Zentrum des Flüssigkeitstropfens ansammeln, sondern eine ringförmige Ansammlung in einem gewissen Abstande vom Meniskus, nach Art der Spirillen bilden. Diese Tatsache führt ihn zur Aufstellung des Begriffs der Mikroaërophilie.

Ich habe die Versuche Beijerincks mit zwei obligat anaëroben Bakterien wiederholt, erstens mit dem Rauschbrandbacillus, zweitens mit einem lebhaft beweglichen Buttersäurebacillus [2]), und kann seine Angaben bestätigen. Nach 10—15 Minuten sieht man die Bakterien vom Rande der Flüssigkeit zurückweichen und eine ringförmige Ansammlung bilden, welche sich allmählich immer weiter vom Rande zurückzieht. Durch

1) B. bruneum ist unbeweglich und konnte deshalb nicht auf seine Atmungsfigur geprüft werden.

2) Letzteren isolierte ich aus Gartenerde, nach vorläufiger Anreicherung in hoher Schicht in einer Lösung von 0,5 Pepton und 3 Proz. Rohrzucker. Ich halte ihn mit Chudjakows Bactridium butyricum für identisch (19. p. 13—15). Beim Weiterzüchten des isolierten Mikroben leistete der Apparat von Omelianski (11) sehr gute Dienste.

mikroskopische Beobachtung kann man sich leicht davon überzeugen, daß die Bakterien beim Hereinschwimmen in den äußeren Rand des Ringes regelmäßig zurückprallen, daß die Apaërotaxis hier also einen ausgesprochen phobotaktischen (29. p. 755. Anm. 2) oder apobatischen (30. p. 393) Charakter trägt. Ob aber die Bakterien andererseits auch den Ort des vollständigen Sauerstoffmangels fliehen, das konnte ich durch mikroskopische Beobachtung nicht mit vollkommener Sicherheit entscheiden. Ueberhaupt glaube ich, daß aus den an sich zweifellos richtigen Beobachtungen Beijerincks nicht ohne weiteres auf eine Mikroaërophilie der obligat-anaëroben Bakterien in seinem Sinne geschlossen werden darf. Eine kritische Erörterung dieses schwierigen Gebietes scheint mir übrigens erst nach weiteren experimentellen Untersuchungen möglich zu sein.

Nowo-Alexandria, Institut für Land- und Forstwirtschaft, den 15. Sept. 1907.

Zitierte Litteratur.

1) Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886.
2) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886.)
3) Smith, Th., The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893.)
4) Smith, T., Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Ebenda. Abt. I. Bd. XVIII. 1895.)
5) Ritter, G., Zur Physiologie des B. prodigiosus. (Ebenda. Abt. II. Bd. VI. 1900.)
6) Zopf, Zur Kenntnis der Organismen des amerikanischen Baumwollsaatmehls. (Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organ. 1892. Heft 1.)
7) Ide, Anaërobiose du bacille commun de l'intestin et de quelques autres bactéries. (La Cellule. T. VII. Ref. im Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 72.)
8) Omelianski, Ueber die Zerstörung der Ameisensäure durch Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904.)
9) Samkow, Zur Physiologie des B. prodigiosus. (Ebenda. Abt. II. Bd. XI. 1903.)
10) Hefferan, Mary, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Ebenda. Bd. XI. 1903.)
11) Omelianski, Ein einfacher Apparat zur Kultur von Anaëroben im Reagenzglas. (Ebenda. Abt. II. Bd. VIII. 1902.)
12) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 1903.
13) Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1901.)
14) Weiss, Ueber drei in gesäuerten Rübenschnitzeln neu aufgefundene Milchsäurebakterien. [Diss.] Göttingen 1898.
15) Beijerinck, Over lichtvoedsel en plastisch voedsel von Lichtbakterien. (Versl. e Med. d. kon. Akad. v. Wetenschappen te Amsterdam, Afd. Natuurk. 2. Reihe. Bd. VII. 1890.)
16) Loew, O., Die chemischen Verhältnisse des Bakterienlebens. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891.)
17) —, Die chemische Energie der lebenden Zellen 2. Aufl. 1906.
18) Beijerinck, Les organismes anaërobies obligatoires ont-ils besoin d'oxygène libre? (Arch. Néerland. T. II. 1899. Sér. 2.)
19) Chudjakow, Zur Lehre von der Anaërobiose 1896. Moskau. [Russ.] (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.)
20) Emmerling, Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. Braunschweig 1902.
21) Péré, Fermentation lactique des corps sucrés par le coli-bacille du nourrisson. (Ann. l'inst. Pasteur. T. XII. 1898.)
22) Jensen, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Denitrifikationsbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
23) Weissenberg, Ueber die Denitrifikation. (Ebenda. Bd. VIII. 1902.)
24) Takahashi, Kann Nitrit als Sauerstoffquelle für Bakterien in anaërober Kultur dienen? (Ref. Biochem. Centr. Bd. IV. 1905/6. p. 671.)
25) Van Iterson, Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904.)
25a) — Ophoopingsproeven met denitrificeerende bakterien. (Kon. Ak. v. Wetensch. te Amsterdam. Bd. XI. 1902.)

26) Ritter, Die Abhängigkeit der Plasmaströmung und Geißelbewegung vom freien Sauerstoff. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
27) Beijerinck, Ueber Atmungsfiguren beweglicher Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893.)
28) Porodko, Studien über den Einfluß der Sauerstoffspannung auf pflanzliche Mikroorganismen. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XLI. 1904.)
29) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. II. 1904.
30) Rothert, Beobachtungen und Betrachtungen über taktische Reizerscheinungen. (Flora. Bd. LXXXVIII. 1901.)

Bakteriologische Untersuchungen über das Trocknen des Bodens.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der agrikulturchemischen Versuchsstation Halle a. S.]

Von Dr. **Otto Rahn.**

Mit 1 Textfigur und 1 Tafel.

Im bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation in Halle wurde von Dr. Heinze beim Impfen von Zuckerlösungen mit Erde die Beobachtung gemacht, daß fast regelmäßig die mit trockener Erde angelegten Kulturen auffallend schneller in Gärung kamen, als die mit feuchter Erde, und weiterhin zeigten sich die Kulturen mit Trockenerde im allgemeinen auch immer viel gärkräftiger, als die Kulturen mit den entsprechenden Frischerden. Herr Dr. Heinze veranlaßte mich, der Ursache näher nachzuforschen, und ich habe dies mit um so größerem Interesse getan, als die Untersuchungen eine allgemeinere Gültigkeit der bekannten Remyschen Bodenbeurteilungsmethoden fraglich erscheinen lassen. Es ergibt sich aus meinen weiteren Beobachtungen und Untersuchungen in jedem Falle, daß eine trockene Erde etwa um 20 Proz. wirksamer ist als die entsprechende feuchte Erde, d. h. sie bildet in Zuckerlösungen etwa 20 Proz. mehr Säure, in Zuckerlösungen mit Kalk 20 Proz. mehr CO_2, in Peptonlösungen und Harnstofflösungen 20 Proz. mehr Ammoniak.

Ich will zuerst drei typische Beispiele für meine Behauptung anführen und dann die verschiedenen Erklärungsversuche beschreiben, die freilich noch kein positives Resultat ergeben haben.

Versuch I. Von 8 verschieden behandelten (zunächst zu anderen Untersuchungen dienenden) Parzellen des Lauchstedter Versuchsfeldes wurden Ende Juli Proben entnommen, von denen ein Teil in verschlossenen Gläsern aufbewahrt wurde, während der Rest in kleinen Säcken schnell trocknete; bei der hohen Sommertemperatur waren sie in 4 Tagen lufttrocken. Es wurden je 20 g trockene oder 24 g feuchte Erde (16—16,8 Proz. H_2O) in 200 ccm einer 2-proz. Dextroselösung geimpft. Nach 24 Stunden zeigten die trockenen Proben 1—8 bereits Gasbläschen von den feuchten Proben nur No. 4 und 5. Da die Lauchstedter Erde etwa 0,9 Proz. $CaCO_3$ enthält, hatte eine Säurebestimmung in den ersten Tagen keinen Zweck. Vom 5. Tage an wurden regelmäßig je 10 ccm der klaren Flüssigkeit mit Phenolphtalein und einer annähernd $^1/_6$ normalen Lauge titriert; die Tabelle I zeigt die Anzahl der verbrauchten Kubikcentimeter; eine Umrechnung habe ich mir erspart, da hier allein die relativen Zahlen in Betracht kommen.

Zur besseren Uebersicht habe ich außerdem bei jeder Tabelle zu den direkt gefundenen Zahlenreihen noch weitere „relative Zahlen" hinzugefügt, welche anzeigen, wie groß die Gärungs- bezw. Fäulnisintensität der trockenen Erde ist, wenn wir die entsprechende Zahl der feuchten Erde = 100 setzen. Aus diesen Zahlen kann man also den Unterschied der Wirkungen zwischen trockener und feuchter Erde prozentisch ablesen.

Da die Versuchsstation keinen Thermostaten besitzt, der niedere Temperaturen von etwa 20° C konstant hält, so sind sämtliche Versuche bei Zimmertemperatur gemacht worden. Es dürfen also (streng genommen) die Resultate einer Serie nur untereinander, nicht mit anderen Serien verglichen werden.

Tabelle I.
Säurebildung in Zuckerlösung.

Parzelle No.	Bodenbehandlung		5	6	8	10	12	14	16	23	31	37	48	60
1	Brache, bearbeitet ohne weitere Behandlung	feucht	0,40	0,54	0,84	1,22	1,40	1,92	2,32	2,70	2,80	2,75	2,50	2,30
		trocken	0,40	0,54	0,96	1,32	1,80	2,28	2,60	2,64	2,84	3,00	3,00	2,90
2	Bearbeitete Brache mit Stroh und Phosphat	feucht	0,40	0,60	1,00	1,50	1,70	2,28	2,56	2,70	2,80	2,80	2,65	2,40
		trocken	0,50	0,70	1,10	1,50	1,96	2,34	2,50	2,64	2,75	2,90	2,95	2,80
3	Bearbeitete Brache mit Zucker	feucht	0,20	0,34	0,64	1,10	1,44	2,04	2,22	2,60	2,50	2,40	2,20	2,00
		trocken	0,30	0,46	0,94	1,30	1,68	2,04	2,44	2,80	2,75	2,60	2,45	2,15
4	Bearbeitete Brache mit Zucker und Phosphat	feucht	0,40	0,50	0,90	1,30	1,50	1,96	2,20	3,00	3,20	3,25	3,25	3,10
		trocken	0,44	0,60	1,10	1,50	1,90	2,32	2,64	3,24	3,40	3,35	3,15	2,90
5	Bearbeitete Brache mit Zucker, Phosphat und Schwefelkohlenstoff	feucht	0,40	0,60	0,92	1,20	1,60	2,00	2,30	3,05	3,05	3,10	2,90	2,65
		trocken	0,48	0,68	0,15	1,60	2,00	2,36	2,80	3,30	3,20	3,35	3,10	3,00
6	Bearbeitete Brache mit Stroh, Phosphat und Schwefelkohlenstoff	feucht	0,46	0,66	1,20	1,64	1,92	2,40	2,84	3,32	3,45	3,60	3,70	3,60
		trocken	0,60	0,84	1,50	1,92	2,32	2,66	3,00	3,30	3,40	3,50	3,40	3,25
7	Bearbeitete Brache mit Phosphaten	feucht	0,46	0,60	0,88	1,22	1,60	2,10	2,52	3,20	3,30	3,40	3,40	3,20
		trocken	0,50	0,72	1,30	1,64	2,06	2,40	2,76	3,30	3,40	3,50	3,45	3,30
8	Unbearbeitete Brache ohne weitere Behandlung	feucht	0,20	0,24	0,52	0,82	1,00	1,32	1,76	1,24	1,00	1,05	1,10	1,00
		trocken	0,24	0,22	0,60	0,84	1,22	1,54	1,90	1,60	1,60	1,60	1,50	1,35

Tabelle Ia.
Relative Zahlen für die Trockenerden (feucht = 100).

	5	6	8	10	12	14	16	23	31	37	48	60
1	100	100	114	108	139	118	112	99	101	109	120	127
2	125	117	110	100	119	103	98	99	98	103	111	117
3	150	135	147	118	117	100	110	107	110	108	112	108
4	110	120	118	115	127	118	120	108	106	103	97	93
5	120	113	125	134	125	118	122	108	105	108	107	113
6	130	127	125	116	121	111	105	100	98	97	90	90
7	109	120	148	118	128	113	110	103	106	103	101	103
8	120	92	115	103	122	117	117	130	160	154	135	135
Mittel	121	116	125	114	125	112	111	107	111	111	108	111

Die Tabelle I zeigt ein deutliches Ueberwiegen der trockenen Erden. Der Unterschied schwankt zwischen 0 und 50 Proz.; er ist am Anfang (in den ersten 12 Tagen) größer als später.

Versuch II. Je 50 g trockene bezw. 58 g feuchte Erde von den 4 ersten Proben des vorigen Versuchs wurden in 200 ccm einer Lösung geimpft, welche 2 Proz. Dextrose, 0,08 Proz. Asparagin, 0,2 Proz. K_3PO_4,

0,2 Proz. K_2HPO_4 und 0,05 Proz. KH_2PO_4 enthielt; außerdem bekam jede Kultur 2 g $CaCO_3$. Durch tägliche Wägungen wurde der Gesamtkohlensäureverlust festgestellt; nach beendeter Gärung wurde durch weitere Wägungen der tägliche Wasserverlust bestimmt und vom ursprünglichen Gesamtverlust abgezogen. Die so korrigierten Werte geben die gebildete Kohlensäuremenge mit einer für unsere Zwecke genügenden Genauigkeit. Ein späterer Versuch wurde mit Gärverschlüssen angestellt. Die Unterschiede zwischen Parallelversuchen blieben gleich hoch.

Tabelle II.

CO_2-Entwickelung in Zuckerlösung mit Kalkzusatz.

		1 g	2 g	3 g	4 g	5 g	6 g	7 g	8 g	9 g
1	feucht	0	0	0,52	0,77	0,92	0,97	1,02	1,01	1,02
	trocken	0	0,09	0,75	1,05	1,27	1,50	1,59	1,57	1,50
2	feucht	0	0,28	0,90	1,29	1,52	1,81	1,92	1,96	1,97
	trocken	0,10	0,68	1,43	1,65	1,81	1,90	1,97	1,97	1,93
3	feucht	0,2	0,25	0,81	1,11	1,26	1,39	1,46	1,47	1,50
	trocken	0	0,36	0,93	1,05	1,19	1,26	1,30	1,32	1,31
4	feucht	0	0,23	0,76	1,09	1,19	1,26	1,33	1,35	1,31
	trocken	0,57	1,09	1,54	1,87	2,05	2,14	2,23	2,30	2,32

Relative Zahlen (feucht = 100).

1	(∞)	148	136	138	154	157	156	148
2	243	152	119	119	106	103	100	98
3	144	114	95	94	90	89	90	87
4	474	204	173	172	171	167	170	177
Mittel	287	155	131	131	130	129	129	128

Auch hier haben wir das gleiche Bild, wie im ersten Versuch: die trockenen Erden sind den feuchten weit überlegen; die Unterschiede sind hier, namentlich anfangs, bedeutend größer, zeigen dann aber, genau wie die anderen Zahlen, eine allmähliche Abnahme bis zu einem konstanten Wert. Die verschieden behandelten Erden zeigen untereinander einen großen Unterschied.

Ebenso wie die zuckerzersetzenden Bakterien, werden auch Harnstoffbakterien und Fäulnisbakterien bei Verwendung von trockener Erde in ihrer Wirkung günstig beeinflußt. Als drittes Beispiel diene ein Versuch mit Gartenerde in Harnstoffbouillon.

Versuch III. Je 10 ccm Peptonlösung mit 10 Proz. Harnstoff wurden mit 1 ccm einer Aufschwemmung von gleichen Teilen Gartenerde (feucht und trocken) und Wasser infiziert; täglich wurden 2 Röhrchen jeder Probe mit bestimmten Mengen titrierter Schwefelsäure angesäuert, die Flüssigkeit wurde von der Erde abfiltriert und nach gründlichem Auswaschen gegen Rosolsäure zurücktitriert.

(Siehe Tabelle III p. 41.)

Die großen Unterschiede am Anfang des Versuchs, die sich später ausgleichen, lassen sich wohl nur dadurch erklären, daß die Bakterienmenge im ersten Entwickelungsstadium bei den Kulturen mit trockener Erde erheblich größer ist. Es mußte also zunächst festgestellt werden, ob trockene Erden einen größeren Keimgehalt haben, als feuchte. Diese (sehr unwahrscheinliche) Vermutung wurde durch eine Reihe von Zählungen widerlegt.

Tabelle III.
mg NH_3 Stickstoff in 10 ccm Harnstoffbouillon.

	2	3	4	5	6	7	8	15
Feucht	10	218	331	258	356	349	343	288
	26	212	319	356	344	347	341	288
Trocken	45	248	338	358	360	347	348	290
	51		335	356	358	344	343	290
Relative Zahlen feucht = 100	267	115	103	100	102	99	101	99

Versuch IV.

Die bei den Versuchen I und II benutzten Erden wurden kurz nach der Probenahme auf ihren Keimgehalt geprüft; ferner wurden nach 56-tägigem Trocknen neue Keimzählungen vorgenommen. Das Resultat war folgendes:

Tabelle IVa.

Erdprobe	Keimzahl am Anfang	Wassergehalt Proz.	Keimzahl nach 56-tägigem Trocknen	Wassergehalt Proz.	Absolute Abnahme	Prozentische Abnahme Proz.
1.	18 750 000	16,00	7 310 000	2,90	11 440 000	60
2.	22 520 000	16,80	6 760 000	3,00	15 760 000	70
3.	31 200 000	16,35	7 980 000	3,00	23 220 000	74
4.	23 780 000	16,65	10 000 000	2,95	13 780 000	58
5.	35 850 000	16,35	10 230 000	2,90	25 620 000	71
6.	41 520 000	16,45	13 200 000	3,00	28 320 000	69
7.	9 930 000	16,30	6 210 000	3,05	3 720 000	38
8.	11 010 000	16,20	5 360 000	3,00	5 650 000	51
Mittel	24 320 000		8 380 000		15 940 000	66

Wir haben hier also eine Abnahme von durchschnittlich 66 Proz. der ursprünglichen Keimzahl, eine nicht gerade auffallend hohe Zahl in Anbetracht der Trockenzeit von fast 2 Monaten. Eine Zählung der Bakterien von 4 bereits 2 Jahre alten Erdproben ergab eine Durchschnittsabnahme von 80 Proz. Diese Proben waren, im Gegensatz zu den Erden des ersten Zählversuches, sehr langsam in großen Emailletöpfen getrocknet, die mit Papier zugebunden waren. Die Erden wurden später wieder angefeuchtet und 4 Tage nach dem Anfeuchten nochmals auf ihren Keimgehalt mit der üblichen Traubenzuckerpeptongelatine geprüft.

Tabelle IVb.

	Keimzahl am Anfang	Wassergehalt Proz.	Keimzahl nach 2 Jahren	Wassergehalt Proz.	Absolute Abnahme	Prozentische Abnahme Proz.
1.	21 830 000	15,5	3 100 000	3,1	18 730 000	86
5.	11 170 000	15,7	2 550 000	3,2	8 620 000	77
7.	21 010 000	15,4	4 460 000	3,0	16 550 000	79
10.	14 030 000	15,5	2 890 000	3,1	11 140 000	80
Mittel	17 010 000		3 250 000		13 760 000	80

Keimzahlen 4 Tage nach dem Anfeuchten. 13 Proz. Wasser:

1. 7 000 000 Bakterien, davon 410 000 verflüssigende Bakterien
2. 6 220 000 „ „ 460 000 „ „
3. 9 150 000 „ „ 680 000 „ „
4. 5 000 000 „ „ 510 000 „ „

Der ursprüngliche Keimgehalt wird also lange nicht wieder erreicht. Bei einem zweiten Versuch mit einem Gemisch dieser 2 Jahre lang getrockneten Erden wurde zum Anfeuchten nicht nur Erde, sondern auch Bodenextrakt aus trockener und feuchter Erde erhitzt und unerhitzt benutzt. Merkwürdigerweise zeigte der mit reinem Wasser angesetzte Versuch eine bessere Entwickelung als der mit Bodenextrakten.

Tabelle IVc.

	Trockene Erde	Wieder angefeuchtete Erde: mit Wasser	mit Extrakt aus feuchter Erde: frisch	mit Extrakt aus feuchter Erde: gekocht	mit Extrakt aus trockener Erde: frisch	mit Extrakt aus trockener Erde: gekocht
Gesamtzahl	3 380 000	8 140 000	6 550 000	4 560 000	4 420 000	6 720 000
Verflüssigende Bakterien	320 000	520 000	220 000	460 000	420 000	410 000

Eine Erklärung für den schädlichen Einfluß des Bodenextrakts im Vergleich mit reinem Wasser zu geben, ist schwierig. Vielleicht sind im Bodenextrakt schädigende Bakterienstoffwechselprodukte vorhanden; die Annahme entbehrt jedoch jeden Beweises. Der Keimgehalt des Bodenextrakts (11 000—13 000 pro Kubikcentimeter) kommt gar nicht in Betracht, da auf 1 g Erde durch den Bodenextrakt nur 1500 gelatinewüchsige Keime zugeführt wurden.

Wir sehen also beim Trocknen der Erde eine anfänglich schnelle Abnahme der Keimzahl eintreten, so daß nach 2 Monaten nur noch etwa $^1/_3$, nach 2 Jahren noch $^1/_5$ der ursprünglichen Bakterien am Leben war. Eine Steigerung der Bakterienzahl wurde nie beobachtet.

Da nun aber beim Trocknen zugleich eine Durchlüftung stattfindet, so konnte diese vielleicht eine Vermehrung verursachen. Daher wurde der folgende Versuch ausgeführt: Am Vormittag wurden in Lauchstedt von 2 Feldstücken Doppelproben [1]) entnommen. Je eine davon wurde sofort verrieben, gemischt und in das Transportrohr gefüllt; die Parallelproben kamen in den cylindrischen Stücken, wie sie den Erdbohrer verlassen hatten, in die Versuchsstation. Am anderen Tage wurden sie dort in derselben Weise bearbeitet; dann wurden von allen Proben Keimzählungen vorgenommen. Eine Probe wurde nach 6 Stunden nochmals untersucht. Ein großer Unterschied ist nirgends eingetreten.

Tabelle IVd.

		Erst verrieben, dann 20 Stunden gelagert	Erst 20 Stunden gelagert, dann verrieben	20 Stunden gelagert, verrieben und wieder 6 Stunden gelagert
2.	Verflüssigende	4 330 000	4 390 000	3 790 000
	Nicht verflüssigende	9 310 000	12 530 000	12 310 000
	Gesamtbakterienzahl	13 640 000	16 920 000	16 100 000
	Schimmel	2 140 000	1 780 000	1 020 000
7.	Verflüssigende	1 670 000	2 610 000	—
	Nicht verflüssigende	3 930 000	4 420 000	—
	Gesamtbakterienzahl	5 600 000	7 030 000	—
	Schimmel	800 000	910 000	—

1) Anm.: Eigentlich hätten natürlich von jedem Feldstücke wenigstens 4 Proben entnommen werden müssen, damit zu den verschieden behandelten Proben auch noch Kontrolproben vorhanden waren: Eine genügende Gleichmäßigkeit von Kontrolproben

Nur in einem Falle konnte eine starke Keimvermehrung infolge der Durchlüftung beobachtet werden, nämlich bei einer humusreichen Gartenerde.

Gartenerde wurde sofort nach der Probenahme durch ein 2 mm-Sieb gesiebt und zur Bakterienzählung fertig bereitet. Der Wassergehalt der Erde betrug 16,08 Proz.

Von der Erde wurde ein Teil (III) in sterilen Schalen (mit steriler Watte überbunden) möglichst schnell bei Zimmertemperatur getrocknet. Der Rest wurde in 2 sterile Gläser gefüllt, die mit sterilisierten Gummistopfen verschlossen waren und täglich mehrmals gelüftet und geschüttelt wurden. I stand bei Zimmertemperatur (20—22 °), II im Eisschrank (11—13 °). Von diesen Proben wurden nach 2 Tagen Platten gegossen. Die Trockenerde III enthielt noch 2,7 Proz. Wasser. Ein Teil der Trockenerde wurde nun mit 15-proz. sterilem, destilliertem Wasser angefeuchtet und nach kräftigem Durchschütteln in gleicher Weise wie zum ersten Male getrocknet (IV). Von allen Böden wurden nach weiteren 4 Tagen, also 6 Tage nach der Probenahme, neue Platten gegossen.

Das Resultat der Zählungen zeigt die nachstehende Tabelle. Die Zahlen sind Mittelwerte von je 5 Platten. Bei der Zählung nach 2 Tagen sind die Zahlen bei I und II jedenfalls zu niedrig. Ich hatte eine derartig starke Vermehrung der Bakterien nicht vorausgesehen; daher waren auf den Platten von I bis zu 2000, bei II bis zu 700 Kolonieen. Die endgültige Zählung mußte schon nach 4 Tagen vorgenommen werden, da bei so dichter Besäung der Platten der Höllensteinstift nicht zu gebrauchen ist.

Tabelle IVe.
Bakteriengehalt, berechnet auf 1 g trockener Erde.

		Frisch	Nach 2 Tagen	Nach 6 Tagen
I. Zimmertemperatur 20—22 °	Nicht verflüssigende	7 730 000	—	90 400 000
	Verflüssigende	4 420 000	—	27 600 000
	Gesamt-Bakterienzahl	**12 150 000**	**328 400 000**	**121 000 000**
	Schimmel	2 420 000	—	—
II. Eisschrank 11—13 °	Nicht verflüssigende	—	—	19 400 000
	Verflüssigende	—	—	11 200 000
	Gesamt-Bakterienzahl	—	**89 900 000**	**30 600 000**
III. Lufttrockene Erde	Nicht verflüssigende	—	5 470 000	5 230 000
	Verflüssigende	—	3 100 000	2 450 000
	Gesamt-Bakterienzahl	—	**8 570 000**	**7 680 000**
	Schimmel	—	1 790 000	1 120 000
	Streptothrix	—	80 000	86 000
IV. Zweimal getrocknete Erde	Nicht verflüssigende	—	—	6 510 000
	Verflüssigende	—	—	2 130 000
	Gesamtbakterienzahl	—	—	**8 640 000**
	Schimmel	—	—	1 350 000
	Streptothrix	—	—	103 000

Der Versuch zeigt, daß die feucht gehaltene Erde der getrockneten in der Keimzahl weit überlegen ist. Auch wenn größere Erdmengen

geht jedoch schon aus früheren Untersuchungen von W. Krüger und B. Heinze, „Ueber das Wesen der Brache“ (cf. landw. Jahrb. 1907), sowie auch durch weitere diesbez. Untersuchungen und Beobachtungen von Dr. B. Heinze und dem Verf. hervor.

zum Trocknen hingestellt werden, können sie nicht mit den feuchten Parallelproben konkurrieren, obschon sie in diesem Falle, da der Trocknungsprozeß langsamer vor sich geht, vielleicht eine geringe Bakterienzunahme gegen die anfängliche Keimzahl zeigen können.

Man kann vielleicht einwenden, daß die landwirtschaftlich wichtigen Organismen auf Gelatine nicht wachsen und daß auch die in Zuckerlösungen vegetierenden Keime nur zum Teil auf der aëroben Gelatineplatte sich vermehren. Doch darf man als sicher annehmen, daß die Pepton zersetzenden Organismen gelatinewüchsig sind[1]), und bei diesem Prozeß ist der Unterschied ebenso stark wie bei den bereits erwähnten Prozessen. Es ist auch nicht gut einzusehen, warum sich die gelatinewüchsigen Bakterien beim Trocknen anders verhalten sollten als die anderen.

Wir dürfen also als höchst wahrscheinlich annehmen, daß alle Bakterienarten durch das Trocknen des Bodens in ihrer Zahl ein wenig reduziert werden. Trotzdem zeigt die Analyse der Stoffwechselprodukte, daß die trockenen Erden in Nährlösungen eine größere Bakterienzahl produzieren als die feuchten, und zwar gerade in den ersten Tagen der Entwickelung. Eine andere Erklärung der erwähnten Beobachtungen ist gar nicht möglich. Es muß also erklärt werden, warum die Bakterien in scheinbar gleichen Lösungen sich schneller vermehren, wenn sie aus trockener Erde stammen.

Die Benetzungswärme kann den Unterschied nicht bewirken, da sie zu gering ist, um bei der Impfmenge von durchschnittlich 10 Proz. der Flüssigkeit eine wesentliche Erwärmung der Kultur zu bewirken.

Die physikalische Struktur scheint ebenso wie die Keimzahlen eher für die feuchte als für die trockene Erde günstig zu sein; die feuchte Erde verteilt sich leicht in der Flüssigkeit; die kleinsten bakterienbeladenen Teilchen schweben lange in der Flüssigkeit und gewähren reichlichen Nahrungszutritt von allen Seiten; die trockene Erde setzt dagegen schnell ab, die zusammengetrockneten Körnchen werden nur sehr langsam von der Nährlösung durchdrungen und die Bakterien hindern sich gegenseitig, da sie dicht beieinander liegen, durch ihre Stoffwechselprodukte.

Es konnte auch leicht experimentell nachgewiesen werden, daß die physikalische Struktur nicht die Ursache der erwähnten Verschiedenheiten ist. Man brauchte nur die Struktur der Erde zu zerstören, indem man sie in Wasser aufschwemmte.

Versuch V. Von einer fein gesiebten Gartenerde (dieselbe, die zum Versuch III und IVe benutzt wurde) trocknete eine Probe sehr schnell, eine in etwa 4 Wochen. Die andere Probe wurde mit soviel sterilem Wasser gemischt, daß Erdtrockensubstanz und Wasser in gleichen Teilen vorhanden waren. Diese Gemenge wurden in Schüttelflaschen 10 Minuten lang heftig geschüttelt und dann diente eine Pipette mit weiter Oeffnung zum Impfen. Je 10 ccm wurden in 200 ccm 2 proz. Dextroselösung mit 5 g $Ca\,CO_3$ geimpft, außerdem je 1 ccm in 10 ccm Harnstoffbouillon (siehe Versuch III). Die Tabelle und die beigegebene Kurve zeigen, daß der Unterschied sehr deutlich hervortritt, daß ferner das langsame Trocknen günstiger ist als das schnelle.

Einen ähnlichen Versuch zeigt die letzte Tabelle. Dort ist ein

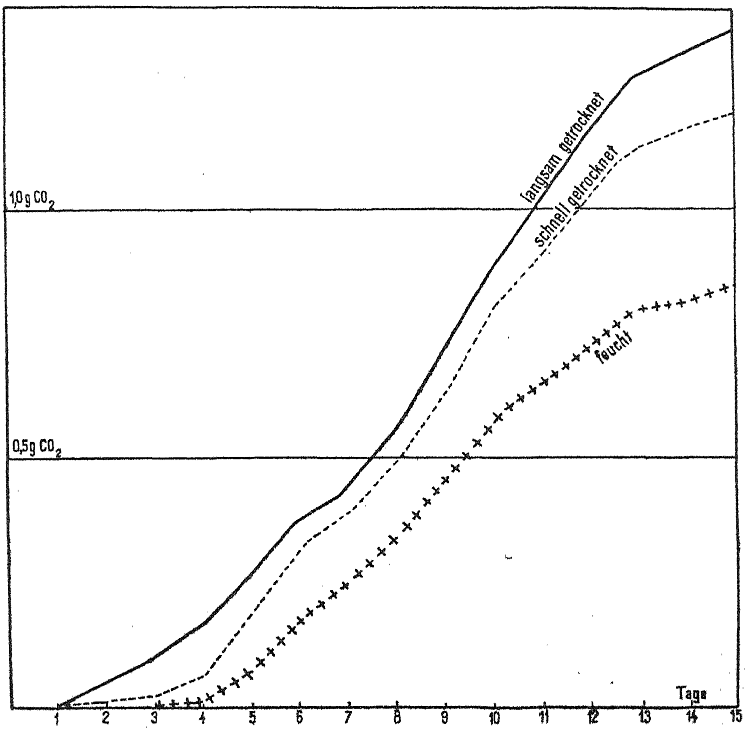
1) Siehe auch Löhnis und Parr, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. p. 522.

Vergleich zwischen zwei verschiedenen Erden angestellt. **Die Unterschiede in der Fäulniskraft werden durch das Verreiben erhöht.**

Tabelle V.

CO_2-Entwickelung in Zuckerlösung mit Kalkzusatz.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Feucht	0	0	0,02	0,15	0,25	0,34	0,45	0,57	0,73	0,85	0,98	1,09	1,14	1,21
	0	0	0	0,02	0,13	0,20	0,28	0,39	0,48	0,54	0,58	0,61	0,61	0,59
	0	0	0,02	0,08	1,16	0,20	0,29	0,39	0,47	0,55	0,64	0,69	0,69	0,72
Mittel	**0**	**0**	**0,02**	**0,08**	**0,18**	**0,25**	**0,34**	**0,45**	**0,57**	**0,65**	**0,73**	**0,80**	**0,81**	**0,84**
Schnell getrocknet	0	0	0,02	0,13	0,18	0,24	0,32	0,47	0,60	0,70	0,81	0,87	0,91	0,95
	0,03	0,09	0,09	0,22	0,42	0,48	0,60	0,71	0,90	1,03	1,16	1,25	1,29	1,35
	0	0,01	0,11	0,24	0,36	0,44	0,54	0,68	0,86	0,99	1,14	1,25	1,28	1,31
Mittel	**0,01**	**0,03**	**0,07**	**0,20**	**0,32**	**0,39**	**0,49**	**0.62**	**0,79**	**0,91**	**1,03**	**1,12**	**1,16**	**1,20**
Langsam getrocknet	0,07	0,19	0,20	0,31	0,41	0,50	0,64	0,80	0,97	1,12	1,29	1,41	1,48	1,51
	0,02	0,03	0,13	0,23	0,35	0,37	0,55	0,68	0,87	1,01	1,17	1,26	1,29	1,32
	0,05	0,08	0.14	0,25	0,36	0,42	0,49	0,63	0,77	0,89	1,00	1,12	1.16	1,21
Mittel	**0,05**	**0,10**	**0,16**	**0,26**	**0,37**	**0,43**	**0,53**	**0,70**	**0,87**	**1,01**	**1,15**	**1,26**	**1,31**	**1,35**
Relative Zahlen.														
Schnell getrocknet	∞	∞	350	250	180	156	144	138	138	140	131	140	143	143
Langsam getrocknet	∞	∞	800	325	206	172	156	156	153	154	157	158	162	161



Dieser Versuch zeigt also ebenso deutlich wie der Versuch II, daß eine Zerstörung der physikalischen Eigenschaften des Bodens durch Aufschwemmen in Wasser die Unterschiede zwischen trockener und feuchter Erde nicht verschwinden läßt, daß die Ursache demnach eine andere sein muß.

Auffallend ist der bedeutend größere Unterschied zwischen den trockenen und feuchten Proben der Gartenerde: Wir haben nach Schluß des Gärversuches noch Unterschiede von 40—60 Proz., während die Lauchstedter Erde nur etwa 20 Proz. zeigte.

Daraufhin wurde noch ein Gär- und Faulversuch mit ganz leichtem Cunrauer Sandboden angestellt, welcher überhaupt keine nennenswerten, charakteristischen Unterschiede zwischen trockenen und feuchten Proben zeigte. Auch die absoluten Kohlensäure- und Ammoniakmengen sind gering gegen die andern, mit Lauchstedter Erden gewonnenen Werte.

Tabelle VI.

mg CO_2 aus 125 ccm Zuckerlösung mit 20 g Erde.

	7	8	9	10	11	12	13	14	16	17	18	19	20	22	23	24	25	26	27
feucht	0	0	0	0	0	0,04	0,07	0,18	0,18	0,25	0,35	0,41	0,53	0,70	0,76	0,79	0,81	0,88	0,91
	0,07	0,04	0,07	0,05	0,07	0,11	0,12	0,17	0,18	0,23	0,35	0,44	0,52	0,77	0,79	0,82	0,84	0,85	0,88
	0,16	0,17	1,16	0,18	0,23	0,28	0,26	0,36	0,37	0,45	0,57	0,72	0,77	1,01	1,07	1,09	1,09	1,17	1,20
	0,12	**0,10**	**0,12**	**0,12**	**0,15**	**0,19**	**0,16**	**0,24**	**0,28**	**0,31**	**0,42**	**0,52**	**0,61**	**0,83**	**0,87**	**0,90**	**0,91**	**0,97**	**1,00**
trocken	0,04	0,04	0,06	0,06	0,12	0,14	0,23	0,25	0,24	0,33	0,44	0,53	0,61	0,83	0.87	0,88	0,91	0,91	0,93
	0,05	0,07	0,04	0,07	0,09	0.07	0,15	0,22	9,25	0,30	0,42	0,50	0,60	0,85	0,92	0,97	1,00	1,05	1,08
	0,05	**0,06**	**0,05**	**0,07**	**0,11**	**0,11**	**0,19**	**0,24**	**0,25**	**0,32**	**0,43**	**0,52**	**0,61**	**0,84**	**0,90**	**0,93**	**0,95**	**0,98**	**1,01**

mg NH_3 Stickstoff in 100 ccm Peptonlösung.

	3 Tage	5 Tage
Feucht	7,9	19,9
	8,3	25,0
Trocken	7,4	15,8
	8,5	19,9

Der Unterschied des bakteriellen Verhaltens zwischen trockener und feuchter Erde ist bei verschiedenartigen Böden verschieden, bei schweren Böden größer als bei leichten; gauz besonders groß aber ist er bei Gartenerde.

Einen weiteren Beweis dafür, daß die physikalische Struktur nicht maßgebend ist, liefert ferner der folgende Versuch VII. 50 g trockene oder 58 g feuchte Erde der Parzellen 5—8 (siehe Versuch I) wurden mit 900 ccm Dextrose-Asparagin-Phosphatlösung (siehe Versuch II) kräftig geschüttelt und klar filtriert. In den Filtraten wurde die Säuremenge titriert. Die Säure war nicht Buttersäure wie bei Versuch I, sondern vermutlich Milchsäure. Nach etwa 7 Tagen beginnt die Entwickelung von Schimmelpilzen (in der Tabelle durch einen Stern bezeichnet) und damit ein Rückgang der Säure. Säurebildung wie Säureabnahme ist in den Filtraten der trockenen Erden am größten; auch die Schimmelbildung beginnt eher.

Tabelle VII.
Säurebildung in Filtraten von trockenen und feuchten Erden.

		2	4	7	9	11	14	16	18	21
5	feucht	0,30	1,20	1,25	1,70*	1,75	1,70	1,80	2,30	2,80
	trocken	0,46	1,50	1,10*	1,20	1,30	0,80	0,80	0,80	0,80
6	feucht	0,80	1,50	1,70	1,50	1,30	1,20	1,15	1,00	1,00
	trocken	1,06	1,70	1,75	1,85	1,75	1,45*	1,45	1,50	1,10
7	feucht	0,40	0,60	1,70	2,00	1,80	1,60*	1,58	1,50	1,60
	trocken	0,59	1,85	1,70*	1,60	1,65	1,20	1,00	1,00	0,75
8	feucht	0,40	0,70	1,50	1,70	1,45	1,20	1,00	0,90	1,00
	trocken	0,60	1,35	1,40	1,45	0,98	0,80	0,93	0,85	0,60

Relative Zahlen.

5	153	125	96	71	74	47	44	35	28
6	133	113	103	123	135	121	126	150	110
7	148	308	100	80	92	75	63	67	48
8	150	193	93	85	68	67	93	95	60

Die physikalischen Eigenschaften des Bodens können natürlich die Filtrate nicht beeinflussen. Sie spielen demnach keine Rolle beim Unterschied zwischen trockener und feuchter Erde.

Ich möchte beiläufig bemerken, daß im Gegensatz zu der schnellen Schimmelbildung in diesen Filtraten in den Säuerungsversuchen mit Erde niemals Schimmelbildung auftrat, auch nie nach dem Sterilisieren und reichlichen Impfen mit Schimmelsporen.

Eine weitere Möglichkeit wäre die, daß Mineralstoffe oder Stickstoffsubstanzen des Bodens leichter aus trockener Erde in Lösung gehen als aus feuchter [1]). Hiergegen spricht allerdings der letzte Versuch ebenso wie Versuch II. Bei ihnen ist in der Nährlösung ein solcher Ueberschuß von den drei wichtigsten Nährstoffen K, N und P gegeben, daß dagegen der geringere Unterschied, welcher durch das Trocknen vielleicht erfolgen könnte, vollständig verschwinden muß. Das gleiche ist bei beiden Harnstoffversuchen mit dem enormen Ueberschuß an N der Fall. Trotzdem ist der Unterschied in beiden Versuchen deutlich erhalten. Natürlich geht bei Zusatz von Asparagin und Kaliphosphaten der Prozeß viel schneller vor sich, wie auch der folgende ergänzende Versuch über die CO_2-Entwickelung in Zuckerlösung mit $CaCO_3$ zeigt.

(Siehe Tabelle VIII p. 48.)

Die Versuche zeigen einmal die außerordentliche Beschleunigung des Gärungsanfangs durch den Zusatz von Nährstoffen, ferner die geringere Gesamtmenge an CO_2 bei Nährstoffzusatz, ein Beweis dafür, daß die Organismenentwickelung vermutlich

1) Und zwar ist es nach neueren Beobachtungen und Untersuchungen von Dr. Heinze und Dr. John mehr als wahrscheinlich, daß auch beim Austrocknen des Bodens in ähnlicher Weise wie besonders bei einer CS_2-Behandlung desselben im allgemeinen u. a. gerade die löslichen N-haltigen Verbindungen des Bodens (z. T. aus abgetöteten Zellen von Bodenorganismen und niederen Pflanzen stammend) zuweilen eine mehr oder weniger große Zunahme erfahren. Ueber ähnliche Resultate bei CS_2-behandelten Böden ist inzwischen auch bereits von Störmer berichtet worden. (Sitzungen der Vereinigung für angewandte Botanik. Dresden 9—12. September 1907.) (Vergl. hierzu auch die analytischen Daten über CS_2-behandelte Bierhefe (Massenkultur) u. nicht behandelte: O. Loew u. K. Aso, „On changes of availability of nitrogen in soils. I." Vorläufiger Bericht aus Bulletin of the College of Agriculture, Tokyo Imperial University. Vol. VII. No. 3. 1907.

Tabelle VIII.
mg CO_2 in Dextroselösung mit $CaCO_3$.

		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ohne Zusatz	feucht	0	0	0	0,10	0,29	0,44	0,60	0,72	0,89	1,01	1,15
	trocken	0	0	0,07	0,21	0,44	0,66	0,81	1,02	1,06	1,04	1,05
Asparagin Kali-Phosphat	feucht	0,07	0,17	0,28	0,42	0,52	0,62	0,70	0,76	0,78	—	0,79
	trocken	0,22	0,33	0,41	0,51	0,60	0,69	0,71	0,75	0,73	—	0,74
Sterilisiert, dann wieder geimpft	feucht	0	0	0	0,06	0,22	0,38	0,53	0,76	0,90	1,03	1,09
	trocken	0	0	0	0,15	0,32	0,54	0,73	0,92	1,00	1,02	1.06

Relative Zahlen.

Ohne Zusatz	—	—	∞	210	152	150	135	142	118	103	91
Mit Asparagin und Kaliphosphat	314	230	146	122	115	111	101	99	94	—	94
Sterilisiert, wieder geimpft	—	—	—	250	146	143	157	121	109	99	97

eine ganz andere ist. Trotzdem zeigt sich wieder der anfangs sehr starke, später verschwindende Unterschied zwischen trockner und feuchter Erde.

Die dritte Reihe dieses Versuchs ist folgendermaßen zu verstehen: 100 g trockne bezw. 118 g feuchte Erde wurden mit 4 g Traubenzucker, 10 g $CaCO_3$ und 200 bezw. 182 g Wasser übergossen, sterilisiert und beide mit der gleichen feuchten Erde geimpft. Der Versuch sollte zeigen, ob vielleicht thermolabile Bakterienstoffwechselprodukte in feuchter Erde vorhanden waren, welche die Entwickelung verzögerten, wie dies von Eijkman[1]), Konradi und Kurpjuweit[2]) und Rahn[3]) beobachtet wurde. Der Unterschied war aber in diesem Falle der gleiche wie in den nicht sterilisierten Erden. Eine Beeinflussung durch thermolabile Stoffe scheint also nicht vorzuliegen. Bei der Wichtigkeit dieses Versuchs und wegen der großen Fehlerwahrscheinlichkeit wurde das Experiment nochmals mit je 3 Parallelkulturen wiederholt.

Versuch IX. Dreimal je 20 g trockne bezw. 22,2 g feuchte Erde bezw. 22,2 g feuchte, aber seit 24 Stunden wieder angefeuchtete Erde wurden mit 125 ccm Dextroselösung und 5 g $CaCO_3$ an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Viertelstunde im Dampf erhitzt und dann mit 15 g feuchter Erde geimpft. Der Kohlensäureverlust wurde unter Anwendung von Gäraufsätzen bestimmt.

(Siehe Tabelle IX. p. 49.)

Der Unterschied zwischen trockner und feuchter Erde ist also durch das Sterilisieren in Lösung nicht beseitigt worden. Wir haben daher die Verzögerung in feuchter Erde einem hitzebeständigen Produkt zuzuschreiben. Die relativen Zahlen zeigen ganz deutlich die charakteristische Abfallskurve; der Unterschied beträgt anfangs 27 Proz., bleibt dann lange auf 13 Proz. stehen und vermindert sich

1) Centr. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII und XXXVI. p. 367.
2) Münchn. med. Wochenschr. No. 37, 45 und 46.
3) Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 417.

Tabelle IX.
CO_2-Entwickelung in Dextroselösung mit $CaCO_3$.

	4	5	7	8	19	10	11	12	15	25
Feucht	0,13 0,12 0,08	0,20 0,19 0,16	0,39 0,35 0,32	0,51 0,48 0,41	0,62 0,62 0,55	0,71 0,74 0,67	0,80 0,85 0,79	0,86 0,90 0,87	1,01 1,04 1,03	1,27 1,20 1,16
Mittel	**0,11**	**0,18**	**0,35**	**0,47**	**0,60**	**0,71**	**0,81**	**0,88**	**1,03**	**1,21**
Trocken	0,13 0,15	0,25 0,19	0,46 0,38	0,60 0,49	0,77 0,60	0,89 0,72	1,03 0,82	1,09 0.88	1,22 1,02	1,41 1,18
Mittel	**0,14**	**0,22**	**0,42**	**0,55**	**0,68**	**0,80**	**0,92**	**0,99**	**1,12**	**1,30**
Wieder angefeuchtet	0,10 0,11 0,12	0,17 0,18 0,20	0,32 0,29 0,37	0,45 0.43 0,50	0,60 0,53 0,64	0,73 0,62 0,77	0,83 0,68 0,90	0,92 0,72 0,98	1,08 0.81 1,14	1,23 1,08 1,38
Mittel	**0,11**	**0,18**	**0,33**	**0,46**	**0,59**	**0,71**	**0,80**	**0,87**	**1,01**	**1,23**

Relative Zahlen.

Trocken	127	122	120	117	113	113	113	113	109	108
Wieder angefeuchtet	100	100	94	98	98	100	99	99	98	102

gegen Ende der Gärung bis zu 8 Proz. Die wieder angefeuchtete Erde zeigt dagegen einen ganz gleichen Gärverlauf wie die dauernd feucht gewesene.

Auch ein anderer Versuch über die Fäulniskraft zeigt, daß die trocken gewesene, aber wieder angefeuchtete Erde schon nach kurzer Zeit die ursprüngliche Fäulniskraft erreicht. Lufttrockne Erde von einem Brachfelde wurde in 3 Teile geteilt: ein Teil wurde am 3. April auf 15 Proz. Wasser gebracht und im verkorkten Gefäß unter häufigem Umschütteln und Lüften des Korks aufbewahrt; ein anderer Teil wurde am 11. April in gleicher Weise angefeuchtet; am 12. April wurde die Fäulniskraft dieser Proben sowie der trocken gebliebenen Erde in 1-proz. Peptonlösung bestimmt.

Tabelle X.

	mg Ammoniakstickstoff		Relative Zahlen 9 Tage feucht = 100	
	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen	nach 3 Tagen	nach 5 Tagen
9 Tage feucht	7,9 8,2	37,0 36,3	100	100
1 Tag feucht	8,4 8,6	38,8	106	106
Trocken	10,5 10,5	42,6 42,4	132	116

Wir sehen also auch hier, daß kurze Zeit, in diesem Falle schon 24 Stunden nach dem Anfeuchten, das bakteriologische Verhalten der Erde wieder zu dem Zustand der feuchten Erde zurückgekehrt ist.

Versuch XI. Es interessierte ferner, festzustellen, in welchem Verhältnis die trocknen und feuchten Bodenproben nach längerem Aufenthalt im Laboratorium zu dem ursprünglichen Boden stehen. Zu

diesem Zweck wurde von einem häufiger umgegrabenen Brachfelde am 28. Febr. eine Probe entnommen, die zuerst einige Tage im Sack lagerte, dann ein wenig zerkleinert in einen großen Emailletopf im Laboratorium gefüllt wurde. Eine Probe von etwa 2 kg trocknete schneller in einem kleinen Topf und wurde am 14. März durch ein 2-mm-Sieb gesiebt. Im großen Topf in ziemlich flacher Schicht unter häufigem Umschütteln verlor sie in wenigen Tagen den Rest ihres Wassers bis auf ca. 2 Proz.

Am 23. März wurde von derselben Brache[1]) wiederum eine Probe entnommen und am 24. März wurden alle 3 Proben auf Gär- und Fäulniskraft untersucht.

Die Impfmenge betrug 10,35 Proz. trockne, 11,7 Proz. feuchte und 11,9 Proz. Originalerde. Der Wassergehalt der Erden betrug trocken 3,5 Proz., feucht 17 Proz., Original 19 Proz. Es wurden 100 ccm 1-proz. Peptonlösung in Leitungswasser und 200 ccm 2-proz. Zuckerlösung mit 5 Proz. $CaCO_3$ benutzt. Eine Korrektur für die mit der Erde zugesetzten Wassermengen wurde nicht angebracht, da die Mengen 2 Proz. nicht überschritten.

Tabelle XI.

	mg NH_3 Stickstoff in 100 ccm Lösung		Relative Zahlen feucht = 100	
	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen
Feucht	5,0 4,8	29,9 29,0	100	100
Trocken	5,7 5,8	28,8 29,2	117	99
Ursprünglicher Boden	4,7 5,2	24,5 27,0	101	88

Gebildete Kohlensäuremenge in Gramm.
Gesamtmenge nach Tagen.

	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14	17
Trocken	0,02	0,11	0,22	0,32	0,39	0,59	0,72	0,82	0,87	1,03	1,10	1,33
	0,01	0,12	0,22	0,29	0,39	0,63	0,75	0,83	0,89	1,05	1,11	1,34
	—	—	—	0,34	0,41	0,63	0,79	0,90	0,95	1,10	1,17	1,37
Mittel	**0,02**	**0,12**	**0,22**	**0,32**	**0,40**	**0,62**	**0,75**	**0,85**	**0,90**	**1,06**	**1,13**	**1,35**
Feucht	0,00	0,03	0,11	0,22	0,26	0,53	0,64	0,67	0,73	0,87	0,94	1,34
	0,00	0,04	0,15	0,25	0,28	0,48	0,64	0,73	0,78	0,92	1,01	1,28
Mittel	**0**	**0,04**	**0,13**	**0,24**	**0,27**	**0,51**	**0,64**	**0,70**	**0,76**	**0.90**	**0,98**	**1,31**
Originalboden	0,01	0,01	0,13	0,32	0,39	0,62	0,76	0,89	0,95	1,12	1,21	1,44
	0,00	0,07	0,19	0,24	0,30	0,48	0,63	0,72	0,78	0,90	0,98	1,31
	0,00	0,03	0,11	0,19	0,23	0,39	0,51	0,61	0,67	0,84	0,86	1,14
Mittel	**0**	**0,04**	**0,14**	**0,25**	**0,31**	**0,50**	**0,63**	**0,74**	**0,80**	**0,95**	**1,02**	**1,30**

Relative Zahlen, feucht = 100.

Trocken	∞	300	169	133	148	122	119	121	119	118	114	102
Originalboden	—	100	107	104	115	98	98	105	105	105	104	100

1) Es hatte inzwischen geschneit und gefroren, dann war wieder Tauwetter eingetreten.

Der Unterschied zwischen trockener und feuchter Erde beruht also nicht in einer Verschlechterung der feuchten Proben durch den Aufenthalt im Laboratorium, sondern in einer Verbesserung der bakteriologischen Verhältnisse durch den Trocknungsprozeß. Ob durch das Trocknen ein Hemmungsstoff beseitigt oder ein Reizstoff gebildet wird, ließ sich bisher nicht feststellen. Der längere Aufenthalt im Laboratorium hat keinen wesentlichen Einfluß auf die Fäulnis- und Gärungskraft der Erde, solange sie feucht gehalten wird.

Eine weitere Möglichkeit zur Erklärung der vorliegenden Erscheinungen wären die Unterschiede in der Salpeterbildung bei trockenen und feuchten Erden. Durch langsames Trocknen wird die Salpeterbildung einer Erde begünstigt, und so lag die Vermutung nahe, daß vielleicht bei allen diesen Versuchen der Unterschied allein auf dem Salpetergehalt der Trockenerde beruht, der als Reizstoff oder besonders günstiger Nährstoff wirkt. Dagegen sprechen nun verschiedene Gründe. Eine schnell, z. B. in 3—4 Tagen lufttrocken werdende Erde kann in so kurzer Zeit unmöglich größere Mengen Salpeter bilden; dagegen kann dies die feuchte Vergleichsprobe, wenn der Wassergehalt nicht übermäßig groß ist. In allen Versuchen, wo die feuchte Erde längere Zeit vor dem bakteriologischen Versuch im Laboratorium gestanden hat, hat sie auch Salpeter gebildet. Z. B. ist in den Versuchen III und V mit schnell und langsam getrockneter Erde die eine Probe in 3 Tagen getrocknet, während die feuchte Vergleichsprobe 4 Wochen im Laboratorium stand und zwecks guter Durchlüftung häufig geschüttelt wurde. Ob beim Anfeuchten von salpeterhaltiger Erde der Salpetergehalt bereits in 24 Stunden soweit zurückgehen würde, ist nach den Versuchen von Krüger und Heinze (Landw. Jahrb. 1907. p. 392 u. 393) sehr fraglich.

Versuch XII.

Um jedenfalls auch einen experimentellen direkten Beweis zu liefern, daß die geringen Salpetermengen des Bodens keine entscheidende Rolle spielen, wurde die trockene Erde vom Vegetationsversuch (siehe später), sowie die dauernd bedeckt gehaltene feuchte Vergleichsprobe zu einem Säuerungs- und Fäulnisversuch benutzt. Der Salpetergehalt betrug

	3,67 mg N		1,31 mg N
feucht	3,79 „ „	trocken	1,36 „ „
14 Proz. H_2O	3,84 „ „	3 Proz. H_2O	1,36 „ „
	3,77 mg N		1,34 mg N

Die feuchte Erde hat also fast 3mal so viel Salpeter als die trockene, welche schon 3 Monate trocken lagerte, also im Keimgehalt schon merklich zurückgegangen war.

Von diesen Erden wurden je 10 g trockene bezw. 11,1 g feuchte Erde in 100 ccm 1-proz. Peptonlösung geimpft, ferner 40 g trockene oder 44,5 g feuchte Erde in 200 ccm 2-proz. Dextroselösung mit 0,05 Proz. KH_2PO_4, 0,05 Proz. K_2HPO_4 und 0,01 Proz. K_3PO_4 geimpft. Kalk wurde nicht zugegeben. Die Säure wurde titrometrisch bestimmt. Die Zahlen geben die Kubikcentimeter Lauge an, die auf 10 ccm Kulturflüssigkeit verbraucht wurden.

(Siehe Tabelle XII p. 52.)

Der Beweis, daß die Hemmungs- bezw. Beschleunigungsursache keinesfalls der verschiedene Salpetergehalt sein kann, ist schlagend.

Da nun der fragliche Stoff filtrierbar ist (Versuch VI) und durch

Tabelle XII. Säuerung.

	Kubikcentimeter Lauge auf 10 ccm Flüssigkeit											
	5	7	8	9	11	12	13	14	15	16	18	21
Feucht	0,50 0,60 0,60	0,8 1,05 0,8	1,00 1,30 0,90	1,30 1,50 1,00	1,90 2,05 1,30	2,20 2,40 1,50	2,40 2,60 1,60	2,70 2,80 1,50	3,00 3,15 2,05	3,35 3,40 2,05	3,50 3,80 0,80	3,35 3,60 0,40
Mittel	**0,6**	**0,9**	**1,1**	**1,3**	**1,8**	**2,0**	**2,2**	**2,3**	**2,7**	**2,9**	**2,70**	**2,45**
Trocken	0,50 0,50 0,50	0,90 0.95 0,90	1,20 1,25 1,25	1,55 1,45 1,60	2,00 2,05 2,25	2,30 2,25 2,50	2,50 2,50 2,80	2,70 2,75 3,10	3,00 3,00 3,40	3,20 3,25 3,60	2,70 2,90 3,40	2,30 2,55 3,00
Mittel	**0,5**	**0,9**	**1,2**	**1,5**	**2,10**	**2,3**	**2,60**	**2,85**	**3,1**	**3,4**	**3,00**	**2,6**
Relative Zahlen	**88**	**104**	**116**	**121**	**118**	**115**	**119**	**122**	**115**	**119**	**111**	**107**

	Milligramm NH_3 = Stickstoff		
	2 Tage	4 Tage	6 Tage
Feucht	8,9 mg 8,9 „	44,3 mg 46,5 „	88,2 mg 88,4 „
Trocken	10,9 mg 11,4 „	53,8 mg 54,5 „	96,0 mg 99,2 „
Relative Zahlen	**125**	**119**	**111**

Hitze nicht zerstört wird (Versuch VI und VIII), wurden Bodenextrakte aus feuchter und trockener Erde so hergestellt, daß gleiche Mengen Erdtrockensubstanz und Wasser 24 Stunden nach der kräftigen Mischung standen und dann filtriert wurden. In diesen Bodenextrakten wurden dann 2 Proz. Traubenzucker bezw. 1 Proz. Pepton gelöst und nach dem Sterilisieren mit Erde geimpft. Wenn der Stoff noch in den Filtraten enthalten war, mußte der Unterschied in dem bakteriologischen Verhalten sehr viel größer sein, als in den früheren Beispielen, da wir dort nur das Verhältnis von Erde zu Wasser, wie 1 : 10 bezw. 1 : 5, hier aber wie 1 : 1 haben. Die Impferde war natürlich im ganzen Versuch die gleiche. Der erste Versuch mit Filtraten erstreckt sich auf 3 Proben mit verschiedenem Wassergehalt, eine lufttrockene (3,0 Proz. H_2O), eine mittlere (12,8 Proz. H_2O und eine recht feuchte (17,0 Proz. H_2O).

Tabelle XIII.

		Milligramm NH_3 = N		
		3 Tage	4 Tage	5 Tage
Boden-extrakt aus Erde	mit 17 Proz. H_2O	27,5 mg 30,2 „	59,2 mg 59,9 „	83,2 mg
	mit 13 Proz. H_2O	25,9 mg 27,7 „	58,1 mg 60,8 „	82,7 mg 87,0 „
	mit 3 Proz. H_2O	28,6 mg 30,2 „	63,6 mg 65,0 „	88,4 mg
Destilliertes Wasser		28,1 mg	68,8 mg 69,7 „	—
Relative Zahlen 17 % = 100	13 Proz.	**93**	**100**	**102**
	3 „	**102**	**109**	**106**
	dest. Wasser	**97**	**118**	

Säurebildung in Bodenextrakt mit 2 Proz. Dextrose.

Wassergehalt der Erde zum Bodenextrakt	200 ccm Flüssigkeit mit 10 g Erde						
	4	5	6	7	9	10	13
17 Proz.	0,45 0,25 0,35	0,60 0,50 0,50	0,80 0,75 0,95	1,00 1,20 1,35	1,40 1,65 1,80	1,85 2,10 2,20	2,00 2,10 2,40
	0,35	**0,53**	**0,83**	**1,18**	**1,62**	**2,05**	**2,17**
13 Proz.	0,35 0,25 0,35	0,50 0,50 0,60	0,75 0,80 0,85	1,00 1,20 1,35	1,50 1,75 1,90	2,00 2.15 2,20	2,30 2,25 2,30
	0,32	**0,53**	**0,80**	**1,18**	**1,72**	**2,12**	**2,28**
3 Proz.	0,30 0,30 0,40	0,50 0,35 0,55	0,75 0,65 0,80	1,10 1,20 1,25	1,65 1,70 1,65	2,10 2,20 2,20	2,30 2,35 2,45
	0,33	**0,47**	**0,73**	**1,18**	**1,67**	**2,17**	**2,37**
Destilliertes Wasser	0,10 0,10 0,10	0,20 0,10 0,20	0,25 0,25 0,30	0,40 0,40 0,45	0,70 0,70 0,70	1,00 1,00 1,00	1,60 1,80 1,85
	0,10	**0,17**	**0,27**	**0,42**	**0,70**	**1,00**	**1,75**
Relative Zahlen 17 % = 100 — 13 Proz.	**92**	**100**	**95**	**100**	**107**	**104**	**105**
Relative Zahlen 17 % = 100 — 3 „	**95**	**88**	**87**	**100**	**103**	**106**	**109**
Relative Zahlen 17 % = 100 — dest. H_2O	**31**	**32**	**32**	**36**	**43**	**48**	**81**

Ein nennenswerter Unterschied ist nicht zu verzeichnen. Die Ursache ist vermutlich die, daß bei dem 24-stündigen Stehen mit Wasser die fragliche Substanz zerstört ist. Der Trockensubstanzgehalt von 150 ccm war bei feuchter Erde (13 Proz. H_2O) 0,1028 g, bei trockener 0,1033 g, also der gleiche. Der Salpetergehalt in 100 ccm Bodenextrakt betrug bei 17 Proz. Wasser 5,30 mg, bei 13 Proz. 4,10 mg, bei 3 Proz. 1,34 mg N. Trotz der großen Salpeterunterschiede ist diesmal keine charakteristische Verschiedenheit des Gärungs- und Fäulnisprozesses eingetreten.

Ein anderer Versuch mit Bodenextrakt zeigte ebenfalls keine Unterschiede; ich verzichte daher auf seine Erwähnung. Die Extrakte müssen längere Zeit mit der Erde zusammenstehen, da namentlich die feuchte Probe bei schwerem Boden sehr langsam absetzt und ein Zusatz von Salzen nicht ratsam ist, da er den Versuch stören kann. In dieser Zeit ist vermutlich schon ein Ausgleich der Hemmungsstoffe eingetreten.

Ferner wurde noch ein Vegetationsversuch mit Senf angestellt, der ebenfalls charakteristische Unterschiede zwischen trockener und feuchter Erde zeigte, die freilich auch auf anderen Ursachen beruhen können.

Am 22. März wurde Erde von einem gepflügten Weizenfelde in Lauchstedt entnommen und teils in dünner Schicht zum Trocknen ausgebreitet, teils in einem großen Eisengefäß in hoher Schicht aufbewahrt. Anfang April war die erstere Erde trocken. Am 15. April wurden Töpfe mit je 7 kg Erdtrockensubstanz gefüllt, und zwar teils mit der reinen Erde, teils mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Erde und Sand und teils mit diesem Gemisch unter Zugabe von 0,912 g $NaNO_3$ (0,15 g N) und 0,61 g K_2HPO_4 (0,25 g P_2O_5) pro Topf.

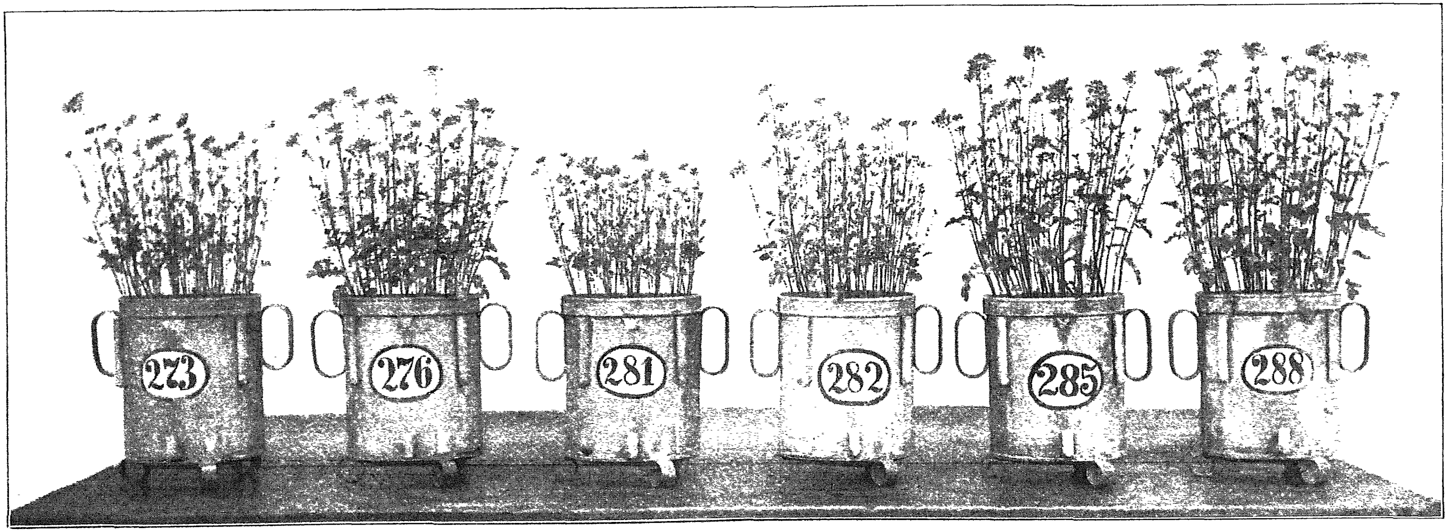
Ferner wurde der gleiche Versuch mit einem Cunrauer Sandboden angestellt, teils ohne Düngung, teils mit 1,824 g $NaNO_3$ (0,3 g N) und 1,22 g K_2HO_4 (0,5 g P_2O_5) pro Topf. Da nur wenig Erde vorhanden war, wurden von den gedüngten Sandboden im ganzen nur 3 Töpfe angesetzt. Am 20. April wurden alle Töpfe auf den normalen Wassergehalt gebracht und mit Senf bestellt. Am 6. Juni wurden einige typische Töpfe photographiert [1]) am selben Tage wurde geerntet.

Tabelle XIV. Vegetationsversuch.

I. Lauchstedter Erde.

		Topfnummer	Erntegewicht: Frischgewicht	Trockengewicht: Gewicht	Trockengewicht: Relative Zahlen feucht = 100
Erde	feucht	273	45,2 g	7,3 g	100
		274	51,1 g	8,2 g	
		275	46,0 g	7,1 g	
	Summe		**142,3 g**	**23,3 g**	
	trocken	276	64,5 g	9,6 g	124
		277	63,4 g	9,0 g	
		278	66,4 g	10,3 g	
	Summe		**194,3 g**	**28,9 g**	
Erde + Sand ungedüngt	feucht	279	28,7 g	4,7 g	100
		280	30,1 g	4,8 g	
		281	29,9 g	4,8 g	
	Summe		**88,7 g**	**14,3 g**	
	trocken	282	42,2 g	7,0 g	143
		283	40,8 g	6,6 g	
		284	41,3 g	6,7 g	
	Summe		**124,3 g**	**20,3 g**	
Erde + Sand gedüngt	feucht	285	58,5 g	10,6 g	100
		286	64,5 g	11,1 g	
		287	67,5 g	11,4 g	
	Summe		**190,5 g**	**33,1 g**	
	trocken	288	77,0 g	12,7 g	116
		289	81,6 g	13,1 g	
		290	75,8 g	12,7 g	
	Summe		**233,4 g**	**38,5 g**	

1) Anm. Vergl. hierzu die beigegebene Tafel.



feucht trocken feucht trocken feucht trocken

Lauchstedter Erde — ungedüngt { Lauchstedter Erde + Sand } (1 : 1) gedüngt

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

II. Cunrauer Erde.

		Topfnummer	Erntegewicht: Frischgewicht	Erntegewicht: Trockengewicht: Gewicht	Erntegewicht: Trockengewicht: Relative Zahlen feucht = 100
Erde	feucht	264	45,1 g	7,4 g	100
		265	46,7 g	7,5 g	
		266	44,1 g	7,1 g	
	Summe		**135,9 g**	**22,0 g**	
	trocken	267	54,3 g	8,8 g	112
		268	45,1 g	7,2 g	
		269	54,7 g	8,7 g	
	Summe		**154,1 g**	**24,7 g**	
Erde gedüngt	feucht	270	111,4 g	16,9 g	100
	trocken	271	118,5 g	16,9 g	102
		272	121,3 g	18,4 g	
	Summe		**239,9 g**	**35,3 g**	

Der Unterschied ist hier also in allen Fällen ziemlich bedeutend; er kann aber auch einen anderen Grund haben, nämlich den verschiedenen Nitratgehalt. Es ist bekannt, daß beim Trocknen des Bodens Nitrifikation stattfindet, die natürlich um so geringer ist, je schneller der Boden lufttrocken wird. Dr. Heinze und ich werden demnächst ausführlich darüber berichten. Die getrocknete Erde hatte einen Salpetergehalt von 1,31—1,36, im Durchschnitt 1,34 mg Salpeterstickstoff pro 100 g Trockenerde. Die Salpetermenge der feuchten Erde ist nicht bestimmt worden, wird aber sehr wahrscheinlich den gleichen Gehalt gehabt haben wie alle anderen Lauchstedter Erden im zeitigen Frühjahr, nämlich 0,80 mg N. Der Unterschied beträgt also 0,54 mg pro 100 g Erde oder 0,0378 g für den Topf. Diese Differenz kann natürlich die Ernte schon beeinflussen, obschon man zugeben muß, daß die feuchte Erde mit dem geringen Anfangsgehalt event. später selbstverständlich mehr Salpeter bilden kann als die trocken gewesene.

Ein Versuch über die Gärkraft dieser Erden nach der Ernte ließ keinen auffallenden Unterschied mehr erkennen.

(Siehe Tabelle XV. p. 56.)

Die Unterschiede in der gebildeten Kohlensäuremenge sind demnach nicht sehr groß. Bei der reinen Lauchstedter Erde überwiegt die feuchte Probe, während beim gedüngten Sandgemisch die trockene stärker gärt. Von einem charakteristischen Unterschied der trockenen und feuchten Erden ist hier nichts mehr zu merken.

Für die Annahme, daß es sich hierbei mehr um den Salpetergehalt als um spezifische Bodenbestandteile handelt, spricht einmal der Umstand, daß durch Zusatz von Salpeter der Unterschied geringer wird, im Gegensatz zu den bakteriologischen Versuchen, ferner die Ernteunterschiede im Cunrauer Boden, bei welchem der bakteriologische Versuch VI keinen Unterschied zeigte. Dann ist auch noch zu beachten, daß nach dem Auslegen der Samen alle Töpfe den gleichen Wassergehalt erhielten; nach den bakteriologischen Erfahrungen müßte bereits nach 24 Stunden, also lange vor dem Keimen, jeder Unterschied verschwunden sein.

Tabelle XV.

Cunrauer Erde.

	3	4	5	6	9	11	13	16	18	21	28
feucht	0	0	0,04	0,14	0,75	0,96	1,24	1,64	1,73	1,73	1,73
trocken	0	0,02	0,13	0,25	0,81	1,03	1,30	1,59	1,65	1,65	1,65
	0	0,06	0,15	0,28	1,02	1,30	1,58	1,83	1,63	1,63	1,63
Lauchstedter Erde.											
feucht	0	0,05	0,13	0,26	0,92	1,14	1,48	1,76	1,84	1,83	1,83
	0,03	0,10	0,18	0,31	1,11	1,11	1,42	1,85	1,92	1,97	1,97
trocken	0	0,05	0,14	0,26	0,93	1,29	1,50	1,70	1,78	1,80	1,80
	0	0,04	0,13	0,23	0,82	1,00	1,28	1,58	1,62	1,63	1,63
Lauchstedter Erde + Sand.											
feucht	0	0	0,03	0,11	0,64	0,81	1,04	1,41	1,48	1,49	1,49
	0	0	0,03	0,10	0,63	0,82	1,03	1,42	1,52	1,50	1,50
trocken	0	0	0,05	0,14	0,69	0,84	1,15	1,39	1,45	1,44	1,44
	0	0,03	0,09	0,18	0,65	0,84	1,05	1,41	1,50	1,50	1,50
Lauchstedter Erde + Sand + Mineralstoffe.											
feucht	0	0,01	0,06	0,12	0,49	0,61	0,83	1,23	1,39	1,40	1,40
	0	0,03	0,09	0,15	0,55	0,69	0,91	1,35	1,48	1,46	1,46
trocken	0	0,03	0,08	0,18	0,85	1,16	1,33	1,62	1,69	1,68	1,68
	0	0	0,08	0,17	0,73	0,90	1,16	1,58	1,66	1,65	1,65

Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse.

Eine bei Zimmertemperatur getrocknete Erdprobe bewirkt bakterielle Zersetzungen schneller als die unter sonst gleichen Bedingungen feucht gehaltene Vergleichsprobe und auch schneller als die feuchte Muttererde. Dies wurde durch viele Versuche[1]) über Säurebildung in Zuckerlösung, Kohlensäureentwickelung in Zuckerlösung mit kohlensaurem Kalk, Ammoniakbildung in Harnstoff- und Peptonlösung nachgewiesen.

Der Unterschied zwischen trockner und feuchter Erde war am stärksten bei Gartenerde (etwa 60 Proz.), geringer bei Lauchstedter Erde (etwa 10—30 Proz.), bei Cunrauer Sandboden gar nicht vorhanden.

Die verschiedene Schnelligkeit des Trocknens hat nur einen geringen Einfluß auf die Größe der Differenz.

Die Keimzahl einer Erde[2]) wird durch das Trocknen stets verringert; der Unterschied kann hierdurch also nicht erklärt werden.

Der Unterschied beruht nicht auf physikalischen Eigenschaften, da sowohl die in Wasser verteilten Erdproben wie die Filtrate den Unterschied zwischen trocken und feucht noch deutlich zeigen. Eine stärkere Aufschließung von Bodenbestandteilen kann nicht zur alleinigen Erklärung dienen, da bei reichlichem Zusatz von Kaliphos-

1) Anm. Die in der vorliegenden Arbeit gebrachten analytischen Daten bilden nur einen Auszug aus umfangreicherem bakteriologischen und chemischen Analysenmateriale. —

2) Anm. Dieser Satz ist im allgemeinen natürlich nur bezüglich der sog. gelatinewüchsigen Organismen giltig.

phaten und Asparagin der Unterschied erhalten bleibt; auch der verschiedene Salpetergehalt der Erden bewirkt nicht die Unterschiede.

Die Substanz, welche diese Unterschiede bewirkt, ist kochfest und durch Filtrierpapier filtrierbar. Es ist unentschieden, ob es sich um eine Hemmung durch die feuchte Erde oder um eine Beschleunigung durch die trockene Erde handelt.

Trockene Erde verliert nach dem Anfeuchten schon in 24 Stunden den größten Teil ihrer intensiveren Fäulniskraft und unterscheidet sich bald gar nicht mehr von der feuchten Originalerde.

Senfpflanzen wuchsen in trocken gewesener Erde besser als in dauernd feucht gehaltener. Es ist aber nicht sicher, ob dieser Unterschied nicht vorwiegend auf Kosten des verschiedenen Salpetergehalts zu setzen ist.

Zur bakteriologischen Bodenbeurteilung nach Remy.

Meine vorstehenden Versuche zeigen, daß bei der Beurteilung von Böden nach der Remyschen Methode leicht Fehler entstehen können, wenn man Wasserverluste nicht streng vermeidet. Ich möchte noch einige Beobachtungen und Betrachtungen über ihren Wert hinzufügen. Sie bietet keine Anhaltspunkte über die Bakterienzahl im Boden. Nehmen wir an, wir hätten zwei Böden, von denen der eine doppelt so viele Bakterien enthielte, als der andere. Impfen wir hiervon gleiche Mengen in Nährlösung, so wird die mit bakterienreicher Erde geimpfte Lösung anfangs stets die doppelte Bakterienzahl und folglich auch die doppelte Stoffwechselproduktmenge enthalten wie die andere. Während dieser Inkubationszeit, der Zeit der intensivsten Organismenentwickelung, werden aber verhältnismäßig nur sehr geringe Stoffwechselproduktmengen gebildet; die eigentliche „Gärung“ oder „Fäulnis“ beginnt erst, wenn die Zahl der Mikroorganismen ihrem Maximum nahe ist. Dieses Maximum ist aber, wie ich früher[1]) zeigte, unabhängig von der Impfmenge und nur bedingt durch die Konzentration eines bestimmten thermolabilen Stoffwechselprodukts. Wenn also die Vermehrung in der stark geimpften Lösung bereits aufhört, geht sie in der schwach geimpften noch so lange vorwärts, bis in beiden die gleiche Bakterienmenge vorhanden ist. Dann ist aber die in der Zeiteinheit gebildete Stoffwechselproduktmenge die gleiche, und der Unterschied der Gesamtstoffwechselprodukte nicht mehr das konstante Verhältnis 1 : 2, sondern eine konstante Differenz, deren Wert mit steigender Zersetzung relativ geringer wird. Aber auch der absolute Wert wird allmählich geringer, denn die Gärung oder Fäulnis wird schließlich durch die Stoffwechselprodukte selbst ebenfalls gehemmt, und zwar in der stärker zersetzten Lösung natürlich eher als in der weniger weit zersetzten; nach einer bestimmten Zeit wird also überhaupt kein Unterschied mehr vorhanden sein.

Wir analysieren bei der Methode von Remy meistens das Stadium der konstanten Differenz. Das Inkubationsstadium gibt wegen der sehr geringen Zersetzung zu ungenaue Daten. Aus der konstanten Differenz aber auf die ursprüngliche Bakterienmenge zu schließen, ist unmöglich.

Wenn nun die Methode von Remy keinen Aufschluß über die

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1906. p. 417.

Mengenverhältnisse der Bakterien gibt, so sollte man vermuten, daß die Arten der Bakterien in verschiedenen Böden dadurch genauer charakterisiert werden könnten. Aber auch dies scheint bei der außerordentlich weiten Verbreitung der meisten Bakterien und ihrer ziemlich weit gehenden Anpassungsfähigkeit ebenfalls illusorisch. So hat man z. B. überall, wo man suchte, Azotobacter gefunden; als einzige Ausnahme gilt wohl die Beobachtung von Burri[1]).

Auch zeigen die Untersuchungen von Löhnis und Parr[2]), daß die Art der sich entwickelnden Bakterien weniger von der Erde als von der Art der Lösung abhängig ist, so daß Peptone verschiedener Herkunft auch bei Impfung mit der gleichen Erde verschiedene Bakterien ergaben. Wenn bei Impfungen mit der gleichen Erde in Pepton Merck fast ausschließlich Bact. fluorescens, in Pepton Schering Bact. putidum und punctatum, in Knochenmehl neben diesen Arten verschiedene Proteus-Varietäten und Microc. candicans, in Hornmehl und Blutmehl vorzugsweise Bact. fulvum sich entwickelt, so kann von einem qualitativen Bakteriennachweise ebensowenig die Rede sein, wie von einem quantitativen.

Die Unterschiede, die die verschiedenen Böden zeigen, müssen also, neben einem geringen Einfluß der in ihnen enthaltenen Bakterienmenge, noch einen anderen Grund haben. Einen Anhaltspunkt hierfür geben die Versuche von Ehrenberg[3]) und die Publikation der New Jersey State Agricultural Experiment Station[4]). Ehrenberg findet, daß es „bakteriell abnorme Böden“ nicht gibt, daß vielmehr die abnormen Böden sich durch sehr starken Kalkmangel auszeichneten. Infolgedessen waren die Böden allein durch Kalkzusatz in normalen Zustand zu bringen. Ehrenbergs Folgerung, daß die Remysche Methode Anhaltspunkte über Virulenz mal Menge der Bakterien gibt, ist jedoch ein ziemlich nichtssagender Ausdruck, da die „Virulenz“ der Bodenorganismen bisher noch nicht präzise definiert ist, und vielleicht niemals genau wird definiert werden können. Ehrenberg hat also nur eine bisher wenig oder nicht erklärliche Tatsache durch ein unklares Wort ersetzt.

Es scheint nach einigen Versuchen, daß den löslichen Mineralstoffen der verschiedenen Böden doch eine größere Rolle bei der Remyschen Methode zukommt, als man allgemein annimmt. Dafür spricht z. B. der folgende Versuch der New Jersey Agricultural Experiment Station 1905.

Tabelle XVI.

50 ccm 1-proz. Peptonlösung, teils in Leitungswasser, teils in einer Salzlösung mit 0,05 Proz. K_2HPO_4, 0,02 Proz. $MgSO_4$ und 0,002 Proz. $CaCl_2$, wurden mit 5 g Erde bezw. 10 ccm Aufschwemmung von 100 Teilen Erde und 200 Teilen Wasser geimpft. Die Zahlen bedeuten mg NH_3 Stickstoff.

Erde No.	Nach 58 Stunden				Nach 82 Stunden			
	Leitungswasser		Salzlösung		Leitungswasser		Salzlösung	
	5 g	10 ccm = 3,3 g	5 g	10 ccm = 3,3 g	5 g	10 ccm = 3,3 g	5 g	10 ccm = 3,3 g
1	22,08	16,35	41,59	41,87	36,85	22,23	46,75	42,88
2	30,69	14,91	41,73	43,16	42,45	15,92	45,17	41,59
3	37,71	17,06	43,44	43,30	47,32	28,11	45,17	43,30
4	39,00	17,36	43,30	42,88	49,04	25,81	45,46	46,17

1) Schweizer Zeitschr. f. Forstwesen. 1906. (Kochs Jahresber. 1904. p. 402.)
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 522.
3) Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904. p. 139.
4) 26th Report for the year 1905 (1906). Trenton. p. 240.

Die Unterschiede der 4 verschiedenen Erden sind in Leitungswasser bedeutend größer als in Salzlösung. Freilich werden die Unterschiede dadurch verwischt, daß die absoluten Zahlen höher sind, weil die Fäulnis in der Salzlösung natürlich schneller fortschreitet. Aber man vergleiche die Vertikalen 3 und 5, die annähernd gleiche Mittelwerte haben. Die größten Differenzen in der Leitungswasserlösung sind 39,0 und 49,0, in der Salzlösung 41,6 und 43,4. Der Salzzusatz hat also eine starke Verminderung der charakteristischen Unterschiede bewirkt; man darf daraus schließen, daß die Unterschiede im wesentlichen durch den verschiedenen Gehalt an löslichen Mineralstoffen bedingt werden, und daher fast verschwinden, wenn man diese Stoffe im Ueberschuß zusetzt. Ich möchte hier jedoch noch einmal darauf aufmerksam machen, daß die Unterschiede zwischen trockener und feuchter Erde zum größten Teil wohl auf anderen Ursachen beruhen müssen, da ein Zusatz von Mineralien und Asparagin die Unterschiede nicht verwischte.

Ein anderer Punkt bei der Methodik der Bodenbeurteilung nach Remy verdient ebenfalls genauer beachtet zu werden, nämlich die Art der Impfung. Während Remy, Ehrenberg, Löhnis u. A. gewöhnlich 10 Proz. Erde zu den Nährlösungen direkt zusetzen, haben Buhlert und Fickendey[1]) vorgeschlagen, Erde und Wasser in gleichem Verhältnis zu mischen und anstatt 10 g Erde 20 ccm des Gemisches zu verwenden. Es ist selbstverständlich, daß auf diese Weise die Mischung vollständiger wird, als ohne Wasserzusatz und daß die Durchschnittsprobe eine bessere ist. Löhnis und Parr schließen zwar aus den oben zitierten Zahlen des New Jersey-Berichtes, daß die Erde besser wirkt als die Aufschwemmung, sie beachten aber nicht, daß die gewogene Erde 5 g, die pipettierte nur 3,3 g betrug.

Um mir über diese Verhältnisse Klarheit zu verschaffen, machte ich einen Fäulnisversuch mit 2 Erden, welche die denkbar größten Unterschiede[2]) zeigten.

	Stickstoff	CaO	MgO	K_2O	P_2O_5	
Schurigshof[2]), lehmiger Sand:	0,057	0,285	0,074	0,094	0,050	Proz.
Reinsdorf, Lößlehmboden:	0,205	4,019	1,257	0,510	0,814	„

Die mechanische Bodenanalyse ergab:

Siebweite	5 mm	3 mm	2 mm	1 mm	0,5 mm	0,2 mm	Feinsand	Staubsand	Abschlämmbar
Schurigshof[2]):	0,5	0,5	0,4	3,4	6,0	18,7	49,9	8,2	12,4
Reinsdorf:	0,7	0,7	0,6	1,7	2,0	5,5	11,8	37,5	39,5

Der Versuch wurde nach zwei Richtungen angestellt: einmal sollte der Einfluß des Mineralsalzzusatzes festgestellt werden; ich benutzte dazu eine Lösung von 0,02 Proz. $CaCl_2$, 0,02 Proz. $MgSO_4$, 0,1 K_3PO_4, 0,1 K_2HPO_4 und 0,02 Proz. KH_2 PO_4, dazu 0,05 Proz. Asparagin. Ferner wollte ich die Größe der Abweichungen beim Aufschwemmen und Wiegen des Bodens untersuchen.

Um die Struktur des Bodens recht gründlich zu zerstören, begnügte ich mich nicht mit einfachem Schütteln, sondern verrieb den Boden in der Reibschale mit der gleichen Menge sterilen Wassers. Ich impfte

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. p. 367.

2) Anmerkung: cf. Schneidewind, Meyer, Frese, Phosphorsäureversuche mit verschiedenen Bodenarten. (Arbeiten der Agrikultur-chem. Versuchsstation Halle. Bd. II. 1906. p. 94.) Die Reinsdorfer Erde wurde später untersucht; auch wurden N-Bestimmungen zu besonderen Zwecken später nachgeholt. (cf. hierzu auch B. Heinze, Ueber die N-Assimilation durch niedere Organismen. Ebenda. 1906. p. 61.)

100 ccm Pepton bezw. Peptonsalzlösung mit 5 g Erde oder 10 ccm Aufschwemmung.

Die Peptonlösungen wurden nach 2, 4 und 7 Tagen, die Peptonsalzlösungen wegen ihres schnelleren Wachstums nach 1, 2 und 4 Tagen destilliert. Die Stickstoffmengen der sterilen Proben sind bereits abgezogen.

Die Tabelle gibt mg Stickstoff an, die durch MgO aus 100 ccm Lösung abspaltbar sind.

Tabelle XVII.

Impfart	Art der Erde	I Absolute Zahlen mg NH^3-Stickstoff			Relative Zahlen. II gewogene Erde = 100 gesetzt			III Schurigshof = 100 gesetzt		
		2	4	7	2	4	7	2	4	7
5 g	S.	2,1 1,9	17,1 16,2	60,1 42,5	100	100	100	100	100	100
	R.	3,8 5,8	33,9	89,9 88,7	100	100	100	190	204	174
10 ccm	S.	2,3 2,1	19,8 18,7	58,4 50,3	110	116	106	100	100	100
	R.	5,9 5,8	43,7 43,2	94,8 94,3	154	128	117	266	225	174
		Nährsalzlösung.								
		1	2	4	1	2	4	1	2	4
5 g	S.	1,0 1,2	10,3 10,1	46,0 45,1	100	100	100	100	100	100
	R.	1,8 1,8	11,3 11,3	44,2	100	100	100	164	111	97
10 ccm	S.	1,1 1,0	10,3 10,4	71,0 68,9	96	101	154	100	100	100
	R.	1,8 2,0	13,0 12,6	56,8 53,3	105	113	124	180	123	79

Die Vertikalreihe II gibt Aufschluß über den Einfluß des Verreibens der Erden. Wir sehen einen durchweg günstigen Einfluß, der bei der nährstoffarmen Schurigshofer Erde in einer Steigerung von durchschnittlich 10 Proz., bei den reichen Reinsdorfer Boden in einer Zunahme von 17—54 Proz. besteht. Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß diese Zunahme allein in einer stärkeren Löslichmachung von Mineralstoffen durch das Zerkleinern beruht. Dafür spricht auch der Umstand, daß in den mit Mineralsalzlösuug angesetzten Kulturen der Unterschied bedeutend geringer ist; nur nach 4 Tagen treten plötzlich starke, mir unerklärliche Unterschiede auf. Man kann auch schon a priori eine etwas günstigere Wirkung der aufgeschwemmten Erden deshalb vermuten, weil die Verteilung eine feinere ist und deshalb alle Bakterien gleichzeitig sofort mit der Nährlösung in Berührung kommen, was bei gewogener Erde nicht in dem Maße der Fall ist.

Die dritte Vertikalreihe zeigt die Aenderungen des relativen Verhältnisses der Fäulniskraft der beiden Böden. Bei den gewogenen Proben

in einfacher Peptonlösung, also bei der üblichen Bestimmungsmethode, hat die nährstoffreiche Reinsdorfer Erde etwa die doppelte Fäulniskraft (90, 104, 74 Proz. mehr). Durch das Verreiben steigt der Unterschied auf 166, 125, 75 Proz.; dies ist nur durch die stärkere Löslichmachung von Mineralien im Reinsdorfer Boden zu erklären. In der Pepton-Mineralsalzlösung ist der Unterschied bedeutend geringer und sinkt schnell unter 0; das Verreiben der Erden bewirkt zwar auch hier eine etwas stärkere Steigerung beim Reinsdorfer Boden, aber die Unterschiede sind bald in dem Nährstoffüberfluß verschwunden.

Alle angeführten Resultate lassen sich allein durch die Löslichkeit der Mineralstoffe in den untersuchten Erden erklären; es scheint mir daher leicht möglich, daß die Unterschiede im bakteriologischen Verhalten verschiedener Böden zum großen Teil auf die verschiedene Menge der löslichen Mineralbestandteile zurückzuführen sein werden, da die Methoden über Zahl und Art der Bodenorganismen z. Zt. nur sehr ungenügende Aufschlüsse geben. In diesem Falle würde die chemische Analyse schneller und wohl auch sicherer zu einer sachgemäßen Bodenbeurteilung führen.

Halle a. S., Ende August 1907.

Beobachtungen über die Wirkung der Hiltnerschen Reinkulturen für Leguminosen.

[Mitteilung des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft, Bromberg.]

Von Prof. Dr. **Gerlach** und Dr. **Vogel.**

Mit 3 Figuren.

I. Teil.

Um die Wirkung der Hiltnerschen Reinkulturen auf die Entwickelung der Seradella, Lupinen und Sojabohne zu prüfen, wurden diese Pflanzen im Frühjahr 1906 in ummauerten Parzellen mit und ohne Impfung zum Anbau gebracht, Die Parzellen waren im November 1905 angelegt worden, und zwar derartig, daß der Boden an den betreffenden Stellen zunächst auf 1 m Tiefe ausgehoben wurde. Die entstandenen Gruben erhielten sodann senkrechte, aus Ziegelsteinen gemauerte Wände von je 1 m Höhe und wurden schließlich mit dem Ackerboden wieder in derselben Lage wie er ausgehoben war, gefüllt. Es entstanden auf diese Weise quadratische, unten offene, d. h. mit dem natürlichen Untergrunde zusammenhängende Parzellen von je 1 qm Oberfläche und 1 cbm Inhalt. Die Parzellen liegen im Bereiche der auf dem Versuchsfelde angelegten Drainage und werden durch diese entwässert. Die Ackerkrume besteht aus humosem Sand, welcher auf hellgelbem Sande ruht. In ungefähr 2 m Tiefe stößt man auf eine undurchlässige Tonschicht. Der Boden enthält:

0,092	Proz.	Stickstoff
0,061	„	Phosphorsäure
0,025	„	Kali
0,590	„	Gesamtkalk.

Die mechanische Analyse ergab:

Grand	0,4 Proz.
sehr grober Sand	1,6 „
grober Sand	5,8 „
mittlerer Sand	48,2 „
feiner Sand	35,6 „
abschlemmbare Teile	8,4 „
	100,0 Proz.

Die in die gemauerten Gruben wieder eingefüllte Erde blieb während des Winters 1905/06 in rauher Furche liegen. Ob auf dem Boden jemals Leguminosen, speziell Lupinen oder Seradella angebaut waren, ist uns nicht bekannt. In den letzten 4—5 Jahren war dies jedenfalls nicht der Fall, das Land lag während dieser Zeit brach und trug einen außerordentlich üppigen Unkrautbestand. Die Versuchsanordnung wird durch folgende Skizze veranschaulicht.

1	2	3	4	5	11	12	13	14	15	21	22	23	24	25	ungeimpft
6	7	8	9	10	16	17	18	19	20	26	27	28	29	30	geimpft
Seradella					Gelbe Lupinen					Sojabohne					

Am 4. April 1906 erhielten alle 30 Parzellen eine Grunddüngung von je 12 g Kali im Kainit (= 120 kg Kali pro Hektar) und je 10 g zitronensäurelöslicher Phosphorsäure im Thomasmehl (= 100 kg Phosphorsäure pro Hektar). Die für den Anbau der Sojabohnen bestimmten Parzellen 21—30 wurden außerdem mit je 500 g kohlensaurem Kalk (= 50 dz pro Hektar) gedüngt. Am 19. April erfolgte dann die Aussaat der Seradella auf den Parzellen 1—10 und der Lupinen auf den Parzellen 11—20. Die Sojabohnen[1]) wurden am 3. Mai ausgesät. Die Saatmengen betrugen:

bei Seradella	5 g pro Parzelle,	mit der Hand gestreut und eingeharkt
„ Lupinen	20 „ „ „	in je 4 Reihen verteilt
„ Sojabohnen	20 „ „ „	ebenfalls in je 4 Reihen verteilt.

Wie aus obiger Skizze ersichtlich ist, erhielten die Parzellen 1—5, 11—15 und 21—25 die ungeimpften, die Parzellen 6—10, 16—20 und 26—30 die entsprechenden geimpften Samen. Die Impfung erfolgte derartig, daß die Reinkulturen mit den dazu gehörigen Nährsalzen in je $^1/_4$ l frischer Milch verteilt und die Samen mit der so erhaltenen Bakterienaufschwemmung gründlich befeuchtet wurden. Den Seradellasamen war vorher eine kleine Menge Erde der betreffenden Parzellen zugesetzt, um ein gleichmäßigeres Ausstreuen zu ermöglichen. Die Aussaat dieser Samen fand breitwürfig statt, während Lupinen und Sojabohnen in Reihen gelegt und ebenso wie die Seradellasamen sofort mit Erde bedeckt wurden. Die ungeimpften Samen sind, um gleichartige Verhältnisse herzustellen, mit einem gleichen Quantum mit Nährsalzen versetzter Milch angefeuchtet und in der beschriebenen Weise ausgesät worden. Das Wetter war bei der Aussaat der Seradella und Lupinen sehr günstig, der Himmel bedeckt. Der folgende Tag brachte Regen. Bei Aussaat der Sojabohnen herrschte Sonnenschein. Da es im Frühjahr und Sommer des Jahres 1906 trocken war, so wurden sämtliche Parzellen von Zeit zu Zeit mit Leitungswasser begossen.

1) Die zum Versuch verwendeten Sojabohnen und die sämtlichen Impfkulturen verdanken wir dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Regierungsrat Dr. Hiltner, München.

Die geimpften Lupinen standen schon anfangs Juni erheblich besser, als die ungeimpften. Sie waren tief dunkelgrün gefärbt und stark entwickelt. Gelegentlich herausgenommene Pflanzen der geimpften Parzellen zeigten gut entwickelte Knöllchen. Bei den nicht geimpften Pflanzen fehlten diese vollständig. Am 10. Juni trat ein deutlich bemerkbarer Unterschied zu Gunsten der geimpften Parzellen auch bei der Seradella hervor. Die geimpften Pflanzen nahmen jetzt eine dunkelgrüne Färbung an, während die ungeimpfte Seradella hellgrün erschien und im Wachstum zurückblieb. Im weiteren Verlauf der Vegetation wurden die Lupinen etwas von Larven der Lupinenfliege geschädigt. Die Zahl der erkrankten Pflanzen war auf den ungeimpften Parzellen größer, als auf den geimpften. Am 14. Juni wurden je drei befallene Pflanzen der ungeimpften und der geimpften Parzellen mit den Wurzeln herausgenommen. Die ersteren erwiesen sich vollkommen frei von Knöllchen, die letzteren enthielten sehr gut entwickelte Knöllchen, vornehmlich am oberen Teile der Hauptwurzel. Am 25. Juni zeigten die geimpften Lupinen reichlichen Ansatz von Knospen, in welchen die gelbe Farbe der Blüte sichtbar wurde. An den ungeimpften Pflanzen war noch kein Beginn der Blüte zu bemerken. Gegen Ende Juni fielen bei allen Versuchen unter den ungeimpften schwächlichen, blaßgrünen Pflanzen vereinzelt dunkelgrün gefärbte, üppig entwickelte Exemplare auf, welche reichlichen Knöllchenansatz zeigten. Es müssen demnach entweder in dem Boden des Versuchsfeldes doch wirksame Knöllchenbakterien enthalten gewesen sein oder es hat trotz größter Sorgfalt bei der Impfung eine Infektion dieser Parzellen stattgefunden. Am 12. Juli wurden die Lupinen durch Abschneiden der Pflanzen über dem Boden geerntet. Sie hatten schon stark abgeblüht und kräftig Schoten angesetzt. Die erzielten Erträge ergeben sich aus der folgenden Zusammenstellung und lassen einen erheblichen, auf die Impfung zurückzuführenden Mehrertrag erkennen.

Parz. No.		Gewicht der oberirdischen grünen Masse g	Gesamtertrag g
11	ungeimpft	2505,0	10 715,0
12		1500,0	
13		2110,0	
14		2500,0	
15		2100,0	
16	geimpft	3200,0	15 520,0
17		3070,0	
18		2900,0	
19		3120,0	
20		3230,0	

Obige Zahlen zeigen, daß der Ertrag von den ungeimpften Parzellen bedeutend größeren Schwankungen als der von den geimpften unterworfen war. Dort ergeben sich Unterschiede bis zu 1003 g, hier nur bis zu 330 g. Sowohl von den geimpften, als auch von den nicht geimpften Parzellen entnahmen wir je 30 Pflanzen zum näheren Studium der Knöllchenverhältnisse. Die Wurzeln der geimpften Pflanzen zeigten sämtlich stark entwickelte Knöllchen, die sich fast ausschließlich am obersten Teile der Hauptwurzel vorfanden. Von den 30 Wurzeln der ungeimpften Pflanzen zeigten nur drei Knöllchenansatz. In 2 Fällen fanden sich die Knöllchen als große kugelige Anschwellungen am unteren Teile der Hauptwurzel, in einem Falle war die Hauptwurzel frei von

Knöllchen, während sich an einer Seitenwurzel mehrere kugelige Knöllchen zeigten. Die übrigen 27 Wurzeln der nicht geimpften Pflanzen waren vollkommen frei von Knöllchen. Es ist möglich, und wird durch die weiter unten beschriebenen Versuche sehr wahrscheinlich gemacht, daß diese am unteren Teile der Hauptwurzel oder an den Seitenwurzeln auftretenden Knöllchen durch im Boden bereits vorhanden gewesene Bakterien verursacht wurden. Die Knöllchen der auf den ungeimpften Parzellen 11—14 durch ihren üppigen Stand auffallenden Pflanzen befanden sich dagegen wie die der sämtlichen geimpften am oberen Teile der Hauptwurzel. Hier wird daher, wie bereits erwähnt, eine Infektion durch die Impfbakterien erfolgt sein. Auffallend war die verhältnismäßig kurz entwickelte Wurzel der geimpften Pflanzen.

Am 13. Juli wurden die 10 Lupinenparzellen unter Einhaltung der erforderlichen Kautelen (Benutzung besonderer Gerätschaften für die geimpften und nicht geimpften Parzellen u. s. w.) flach geschält und von neuem ohne weitere Impfung mit Lupinen bepflanzt. Auch jetzt traten bei der Entwickelung der Pflanzen deutlich Unterschiede zu Gunsten der Impfung hervor, die in den Ernteerträgen einen klaren Ausdruck fanden. Die Ernte erfolgte am 11. Oktober. Die Erträge ergeben sich aus der folgenden Tabelle.

Parz. No.		Gewicht der oberirdischen grünen Masse g	Gesamtertrag g
11	ungeimpft	1029,0	4849,0
12		865,0	
13		918,0	
14		1001,0	
15		1036,0	
16	geimpft	1645,0	8364,0
17		2028,0	
18		1730,0	
19		1586,0	
20		1375,0	

Es waren also an grüner Masse gewonnen

	ungeimpft	geimpft
I. Ernte	10 715,0 g	15 520,0 g
II. „	4 849,0 „	8 364,0 „
	15 564,0 g	23 884,0 g
pro Parzelle	3 112,8 „	4 775,8 „

Die Seradella der 10 Versuchsparzellen wurde am 8. August geerntet und zwar wiederum durch Abschneiden der grünen Masse über dem Boden. Das Ernteergebnis war folgendes:

Parz. No.		Gewicht der oberirdischen grünen Masse g	Gesamtertrag g
1	ungeimpft	1612,0	8530,0
2		1586,0	
3		1681,0	
4		1931,0	
5		1720,0	
6	geimpft	2179,0	9985,0
7		1795,0	
8		1967,0	
9		1904,0	
10		2140,0	

Das ergibt von der Parzelle

	ungeimpft	geimpft
	1706,0 g	1997,0 g

grüne Masse.

Sämtliche Wurzeln der geimpften Pflanzen zeigten große Massen von Knöllchen, vielfach zu dicken Nestern an der Hauptwurzel zusammensitzend. Bei den nicht geimpften Pflanzen fanden sich an etwa 60 Proz. der Wurzeln zahlreiche Knöllchen, die sich jedoch vornehmlich an den Nebenwurzeln vorfanden.

Bei den Sojabohnen war der Impferfolg anscheinend am wenigsten ausgesprochen. Sie wurden nach eingetretener Reife am 15. September mit den Wurzeln geerntet. Die Erträge ergibt folgende Zusammenstellung.

Parz. No.		Gewicht g	Gesamtgewicht g
21	ungeimpft	759,0	4359,0
22		777,0	
23		843,0	
24		970,0	
25		1010,0	
26	geimpft	891,0	5676,0
27		1157,0	
28		932,0	
29		1290,0	
30		1406,0	

Der Ertrag einer Parzelle stellt sich demnach

	ungeimpft	geimpft
	871,8 g	1135,2 g.

Die Wurzeln der ungeimpften Pflanzen waren vollkommen frei von Knöllchen. Aber auch auf den geimpften Parzellen fanden sich vereinzelt Pflanzen mit knöllchenfreien Wurzeln. Die Pflanzen wurden zum Nachtrocknen in Papierdüten aufbewahrt und alsdann die Körner von den Stengeln getrennt. Es wurden erhalten:

bei Parzelle 21—25 (ungeimpft) 515 g Körner, 1713 g Stroh
„ „ 26—30 (geimpft) 635 „ „ 2031 „ „

In allen Fällen ist demnach durch die Impfung ein Mehrertrag erzielt worden. Das Gesamtergebnis wird durch folgende Tabelle veranschaulicht.

Seradella.

No.	Parz. No.	Behandlung	Ernte pro Parzelle	Stickstoffgehalt der grünen Masse Proz.	Geerntete Trockensubstanz pro Parzelle g	Geernteter Stickstoff pro Parzelle g
1	1—5	ungeimpft	1706,0	0,399	395,79	6,81
2	6—10	geimpft	1997,0	0,572	479,28	11,42

Gelbe Lupinen.

No.	Parz. No.	Behandlung	Ernte pro Parz.			Stickstoffgehalt der grünen Masse Proz.		Geerntete Trockensubstanz pro Parz. g	Geernteter Stickstoff pro Parz. g
			1. Ernte	2. Ernte	Zus.	1. Ernte	2. Ernte		
3	11—15	ungeimpft	2143,0	969,8	3112,8	0,267	0,353	427,28	9,15
4	16—20	geimpft	3104,0	1672,8	4776,8	0,436	0,448	656,34	21,03

Sojabohnen.

No.	Parz. No.	Behandlung	Ernte pro Parz. Körner	Ernte pro Parz. Stroh	Stickstoffgehalt Proz. Körner	Stickstoffgehalt Proz. Stroh	Geerntete Trockensubstanz pro Parz. g	Geernteter Stickstoff pro Parz. g
5	21—25	ungeimpft	103,0	342,6	4,33	0,579	407,93	6,44
6	26—30	geimpft	127,0	406,2	4,40	0,580	481,52	7,94

Mithin ergab die Impfung folgende Ertragssteigerung

	Trockensubstanz	Stickstoff
Bei Lupinen	53,6 Proz.	129,9 Proz.
„ Seradella	21,1 „	67,8 „
„ Sojabohnen	18,0 „	23,3 „

Der Versuch sollte hiermit beendet sein und sich im nächsten Jahre hieran ein Bewässerungsversuch mit Lupinen anschließen. Die abgeernteten Parzellen wurden im Herbst umgegraben und blieben über Winter in rauher Furche liegen. Im Frühjahr 1907 bestellten wir sie sämtlich mit gelben Lupinen, welche ausnahmslos mit den Hiltnerschen Reinkulturen geimpft waren. Alle Parzellen hatten am 21. März eine Kali-Phosphat-Grunddüngung erhalten. Die Aussaat der geimpften Samen erfolgte am 28. März. Während des Wachstums der Lupinen machten wir nun folgende interessante Beobachtungen. Schon am 5. Juni zeigte es sich, daß die Lupinen auf den Parzellen 1—10, welche im Vorjahre Seradella getragen hatten, ganz erheblich besser standen als auf denjenigen, welche damals mit Lupinen und Sojabohnen bepflanzt waren. Die Pflanzen waren tief dunkelgrün und machten gegenüber den anderen Lupinen den Eindruck mit Erfolg geimpfter Pflanzen. Am 18. Juni blühten die Lupinen auf den Parzellen 1—10 (Vorfrucht Seradella), der Stand war ein außerordentlich dichter, die Pflanzen tief dunkelgrün. Von den erheblich schlechter entwickelten Pflanzen der anderen Parzellen blühte noch keine einzige. Auf den Parzellen 11—20 (Vorfrucht Lupinen) trat allerdings ein Ergrünen einzelner Pflanzen und kräftigere Entwickelung ein. Weitaus am schlechtesten war der Stand auf den Parzellen 21—30 (Vorfrucht Sojabohnen).

Am 25. Juni standen die Lupinen auf sämtlichen Parzellen in voller Blüte, am besten auf den Parzellen 1—10, am schlechtesten auf den Parzellen 21—30. Messungen ergaben folgende Zahlen:

Durchschnittliche Länge der Pflanzen mit Wurzeln:

Lupinen von Parzelle	1—10	(Vorfrucht Seradella)	55—60 cm
„ „ „	11—20	(„ Lupinen)	40—45 „
„ „ „	21—30	(„ Soja)	15—25 „

Am 8. Juli wurden von den Parzellen jeder Gruppe je 12 Pflanzen zur Untersuchung entnommen. Diese wogen

Lupinen von Parzelle	1—10	(Vorfrucht Seradella)	705 g
„ „ „	11—20	(„ Lupinen)	265 „
„ „ „	21—30	(„ Soja)	135 „

Die Lupinen nach Seradella waren 65—75 cm lang und sämtlich mit Knöllchen versehen, welche sich ausschließlich an dem obersten Teil der Hauptwurzel befanden und dort zu dicken Anschwellungen geführt hatten. Nur eine einzige von 12 untersuchten Pflanzen zeigte auch an den Seitenwurzeln Knöllchen, aber auch hier an dem obersten Teil. Die

Lupinen nach Lupinen waren teils mit Knöllchen besetzt, teils ohne diese. Erstere besaßen eine Länge von etwa 58 cm, letztere eine solche von 42 cm. Von den 12 Pflanzen waren 7 ohne jegliche Knöllchen. Bei den übrigen 5 waren stark entwickelte, dick aufgetriebene Knöllchen außer im oberen Teil der Hauptwurzel auch im unteren Teil und an den Seitenwurzeln vorhanden. Die Lupinen nach Soja erschienen fast durchweg hellgrün und kümmerlich entwickelt. Ganz vereinzelt zeigte sich eine etwas bessere dunkelgrüne Pflanze. Die untersuchten 12 Pflanzen waren sämtlich knöllchenfrei und durchschnittlich 42 cm lang. Bei diesen Pflanzen waren die Wurzeln länger, die oberirdischen Pflanzen also kürzer als die vorigen. Eine der besser entwickelten dunkelgrünen Pflanzen zeigte ein starkes, haselnußgroßes Knöllchen am unteren Teil der Hauptwurzel, ferner einige Knöllchen an den Seitenwurzeln.

Am 9. Juli wurden abermals aus jeder Gruppe 12 Pflanzen entnommen. Die Gewichte betrugen

bei Gruppe I	(Vorfrucht	Seradella)	675 g
„ „ II	(„	Lupinen)	532 „
„ „ III	(„	Soja)	320 „

Die Gewichte bei Gruppe II und III sind verhältnismäßig hoch, weil absichtlich Pflanzen von dunkelgrüner Farbe und guter Entwickelung ausgesucht wurden, die zum näheren Studium der Knöllchenverhältnisse dienen sollten. Dieses ergab folgendes Bild. Sämtliche Wurzeln der Gruppe I (siehe Abbildung 1) zeigten die Knöllchen zu wulstigen Anschwellungen vereinigt am obersten Teile der Hauptwurzel. Das ganze Wurzelsystem war, wie auch die Pflanzen, sehr kräftig entwickelt. Die Seitenwurzeln waren fast ausnahmslos frei von Knöllchen.

Ganz anders bei Gruppe II. Hier war die Infektion offenbar durch weniger wirksame Bakterien, und wie aus dem späteren Ergrünen der Pflanzen geschlossen werden kann, auch zu einer späteren Zeit eingetreten. Das ganze Wurzelsystem war hier schwächer entwickelt. Die Knöllchen befanden sich (siehe Abbildung 2 No. 1, 2, 5, 6) fast ausschließlich an den Seitenwurzeln. Die zuweilen an der Hauptwurzel zu beobachtenden Knöllchen (No. 3, 4) saßen nicht am obersten Teil und bildeten, was wir wegen der ganz konstanten Wiederholung für besonders typisch halten, nicht wie die sehr infektionstüchtigen Bakterien der Gruppe I dicke, wulstige, nierenförmige Anschwellungen, sondern dick aufgetriebene Kugeln. Derartige an dem mittleren odeh unteren Teile der Hauptwurzel befindliche Knöllchen scheinen demnacs weniger wirksam zu sein. Das wird bestätigt durch das Bild, welcher die Wurzeln der spärlichen mit Knöllchen versehenen Pflanzen der Gruppe III bieten. Diese Lupinen sind am schlechtesten entwickelt. Wie No. 1 der Abbildung 3 zeigt, befindet sich ein durch avirulente Bakterien hervorgerufenes kugelig aufgetriebenes Knöllchen am mittleren Teil der Hauptwurzel. Auch an den Seitenwurzeln sind Knöllchen solcher Art zu finden (No. 2), niemals aber oben an der Hauptwurzel. Die weitaus meisten Pflanzen dieser Gruppe zeigen jedoch überhaupt keine Knöllchen an den Wurzeln (No. 3—6) und sehen infolgedessen recht kümmerlich aus.

Am 11. Juli wurden abermals 12 Pflanzen jeder Gruppe zur Isolierung der Knöllchenbakterien entnommen. Die Gewichte betrugen:



Fig. 1. Seradella-Lupinen.



Fig. 2. Lupinen-Lupinen.



12 Pflanzen von Gruppe	I	(Vorfrucht Seradella)	638 g
12 „ „ „	II	(„ Lupinen)	578 „
12 „ „ „	III	(„ Soja)	344 „

An den Pflanzenwurzeln zeigten sich wiederum die Knöllchen in der beschriebenen typischen Weise verteilt.

Am 12. Juli fand die Ernte der Lupinen statt. Die Pflanzen wurden direkt über der Erde abgeschnitten, die Wurzeln verblieben also im Boden. Wir ernteten:

Gruppe I.
(Vorfrucht Seradella.)

Im Vorjahre	ungeimpft		geimpft	
	Parz. 4	3500 g	Parz. 9	3435 g
	„ 5	3950 „	„ 10	3270 „
		7450 g		6705 g

	7 450 g
	6 105 „
bereits früher geerntet	2 018 „
	16 173 g = 4043 g pro Parzelle.

Gruppe II.
(Vorfrucht Lupinen.)

Im Vorjahre	ungeimpft		geimpft	
	Parz. 11	2690 g	Parz. 16	2 850 g
	„ 12	1334 „	„ 17	2 235 „
	„ 13	842 „	„ 18	1 977 „
	„ 14	1412 „	„ 19	1 922 „
	„ 15	2032 „	„ 20	2 100 „
		8310 g		11 084 g

	8 310 g
	11 084 „
bereits geerntet	1 375 „
	20 769 g = 2077 g pro Parz.

Gruppe III.
(Vorfrucht Soja.)

Im Vorjahre	ungeimpft		geimpft	
	Parz. 21	632 g	Parz. 26	683 g
	„ 22	517 „	„ 27	448 „
	„ 23	815 „	„ 28	725 „
	„ 24	634 „	„ 29	739 „
	„ 25	595 „	„ 30	602 „
		3193 g		3197 g

	3193 g
	3197 „
bereits geerntet	799 „
	7189 g = 719 g pro Parz.

Die Untersuchung der geernteten Lupinen ergab

Lupinen nach	Wasser	Stickstoff
Seradella	85,3 Proz.	0,450 Proz.
Lupinen	84,7 „	0,449 „
Soja	81,4 „	0,275 „

Hiernach berechnet sich

Lupinen nach	pro Parzelle Trockensubstanz	pro Parzelle Stickstoff
	g	g
Seradella	594,32	18,19
Lupinen	291,31	8,55
Soja	133,73	1,96

Die Zahlen bringen klar zum Ausdruck, daß die Lupinen nach Seradella den höchsten Ertrag an grüner Masse, Trockensubstanz und Stickstoff gegeben haben. Es folgen dann erst diejenigen nach Lupinen.

Noch wesentlich geringer ist das Ernteergebnis derjenigen Lupinen, welche nach im Vorjahre angebauten Sojabohnen gestanden haben. Dieses eigenartige Verhalten der diesjährigen Lupinen wird noch interessanter durch den Umstand, daß die Samen aller 30 Parzellen ganz gleichartig, und mit den gleichen, wiederum von Hiltner bezogenen Kulturen geimpft waren, welche im Vorjahre so günstig auf die Entwickelung der Lupinen gewirkt hatten. Man hätte annehmen müssen, daß die diesjährigen Lupinen auf den vorjährigen Lupinenparzellen den höchsten Ertrag geben und erst dann die Lupinen nach Seradella folgen würden. Dies war aber nicht der Fall. Die Impfbakterien blieben bei Gruppe II fast wirkungslos, was aus der großen Anzahl der knöllchenfrei gebliebenen Pflanzen geschlossen werden darf. In Gruppe III erlitten sie eine direkte Schädigung. Bei dem durchaus gleichmäßig zusammengesetzten und behandelten Boden der 30 Parzellen muß demnach angenommen werden, daß die Organismenflora des Bodens durch die vorjährigen Leguminosen derartig beeinflußt wurde, daß nach Seradella auf Lupinen sehr günstig wirkende, nach Lupinen weniger gut wirksame und nach Soja den Lupinenbakterien schädliche Arten das Feld beherrschten. Die Entwickelung nach Seradella ist eine vorzügliche, schwach entwickelte Pflanzen sind überhaupt nicht vorhanden. Die im Boden vorhandenen Bakterien haben also die Impfbakterien in keiner Weise geschädigt, bezw. sie sind selbst für die Lupinen außerordentlich wirksam geworden. Nach Lupinen ist die gute Wirkung der Bakterien, die erwartet werden konnte, nicht eingetreten. Noch viel weniger war dies bei Gruppe III der Fall. Hier trat keinerlei Impfwirkung ein. Die im letzten Frühjahr zugeführten Impfbakterien sind unter den ungünstigen nach Soja herrschenden Verhältnissen vollkommen vernichtet oder in ihrer Tätigkeit gänzlich gestört worden.

Aus einer großen Anzahl von typischen Knöllchen der Wurzeln aus den Gruppen I, II und III wurden Knöllchenbakterien in Reinkultur gewonnen. Wir werden mit den erhaltenen Stämmen im kommenden Frühjahr Impfversuche unter den verschiedensten Bedingungen anstellen.

Bei der Isolierung der Knöllchenbakterien aus den Wurzelknöllchen der verschiedenen Pflanzen zeigte sich die eigentümliche und interessante Erscheinung, daß die als besonders wirksam anzusprechenden Bakterien der nach Seradella gewachsenen Lupinen auf den künstlichen Lupinennährböden (Lupinenagar nach Hiltner) nur zögernd und langsam, die weniger wirksamen Bakterien der Fruchtfolgen Lupinen-Lupinen- und Soja-Lupinen dagegen von Anfang an überaus üppig gediehen. Dieses Verhalten ist vollkommen analog dem der pathogenen Bakterien, welche im allgemeinen auf künstlichen Nährböden um so besser gedeihen, je mehr sie an ihrer Virulenz eingebüßt haben. Es soll der Versuch gemacht werden, durch Zusatz von Seradellawurzelextrakt zu dem Lupinennährboden das Wachstum der Seradella-Lupinenbakterien zu begünstigen.

Diese Versuche sprechen unseres Erachtens dafür, daß sich die Bakterien der Seradella und der Lupinen gegenseitig vertreten können, eine Tatsache, die auch mit der neuerdings von Hiltner geäußerten Ansicht über die Arteinheit der Knöllchenbakterien in Uebereinstimmung steht. Die Ursache für die starke Schädigung der Impfbakterien für Lupinen nach vorausgegangenem Anbau von Sojabohnen, sowie der schwachen oder geringen Wirkung obiger Bakterien nach Lupinen werden wir durch weitere Versuche zu ergründen suchen.

Die für das Jahr 1907 geplanten und bereits erwähnten Bewässerungs-

versuche hatten durch das eigentümliche Verhalten der diesjährigen Lupinen stark gelitten. Immerhin sind die gewonnenen Zahlen so interessant, daß wir sie im nachstehenden veröffentlichen.

Das Jahr 1907 war für Bewässerungsversuche in der Provinz Posen überhaupt nicht günstig, denn die Niederschlagsmenge ging in den Sommermonaten weit über die normale Höhe hinaus. Es fielen auf dem Versuchsfelde in Bromberg

	Sommer 1907	normale Niederschlagsmenge (Mittel v. 1861—1895)
Mai	82,5 mm	45 mm
Juni	55,7 „	62 „
Juli	122,3 „	62 „
August	40,5 „	55 „
	201,0 mm	224,0 mm

Trotzdem hat eine schwache Bewässerung bei den Lupinen nach Seradella den Ertrag noch wesentlich gesteigert, während bei den Lupinen nach Lupinen und Soja die Bewässerung eher schädlich als günstig gewirkt hat. Wir ernteten von der Parzelle:

Lupinen nach Seradella.

	Trockensubstanz g	Stickstoff g
durch die natürl. Niederschläge	790,9	25,78
„ „ „ „ und 150 mm Bewässerung	1023,3	31,25
„ „ „ „ und 300 „ „	1067,1	31,52

Lupinen nach Lupinen.

	Trockensubstanz g	Stickstoff g
durch die natürl. Niederschläge	273,1	8,01
„ „ „ „ und 150 mm Bewässerung	211,4	6,21
„ „ „ „ und 300 „ „	255,1	7,48

Lupinen und Soja.

	Trockensubstanz g	Stickstoff g
durch die natürl. Niederschläge	143,2	2,10
„ „ „ „ und 150 mm Bewässerung	127,8	1,88
„ „ „ „ und 300 „ „	111,4	1,64

Diese Versuche zeigen recht deutlich, daß die den Lupinen gebotenen Wassermengen — und dasselbe gilt von den Nährstoffen — erst dann zweckmäßig ausgenützt werden können, wenn der Boden ausreichende Mengen wirksamer Knöllchenbakterien enthält.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

(Fortsetzung.)

VIII. Versuch. Ein größeres Gefäß wurde mit Wurzeln (Unkrautwurzeln, Baumwurzeln, Rebwurzeln, Gemüsestrünken etc.) gefüllt, und diese wurden am 20. Juli 1906 mit Wasser übergossen. Das benutzte Gefäß hatte in der Nähe des Bodens einen Tubus, an dem das Wasser abgezapft werden konnte. Diese Flüssigkeit wurde nun vom 25. Juli ab zum

Bewässern von Rebstecklingen, die in Töpfen auf Boden von verschiedenem Kalkgehalt stockten, benutzt. Das Abzugsloch dieser Töpfe war durch Zustopfen abgeschlossen; die Erde konnte so leicht in stark feuchtem Zustande erhalten werden. Ebenso wurden in Parallele Topfreben behandelt, die aber mit reinem Wasser gewässert wurden. Resultat: Am 10. Aug. zeigten sich bei einigen mit Faulbrühe behandelten Stecklingen fahlgrüne Blätter ohne Unterschied des Kalkgehaltes des Bodens, der überhaupt bei diesem Versuch vorerst gänzlich ohne wahrnehmbaren Einfluß blieb. Diese Verfärbung der Blätter begann an den untersten zuerst und zeigte sich meist in der Nähe der Rippen, manchmal auch fleckweise, so daß das Laub ein gelbgescheckte Aussehen erhielt. Später traten an den Blättern auch rostfarbene Flecken auf. Von den unteren Stockteilen schritt die Vergilbung nach oben fort. Am 15. Aug. begannen bei einigen der behandelten Stecklinge die unteren Blätter welk zu werden und abzufallen, eine Erscheinung, die in den folgenden Tagen bei allen Versuchsobjekten dieser Reihe hervortrat. Die Stöcke des Parallelversuchs, die, wie oben erwähnt, mit reinem Wasser bewässert wurden, waren noch vollkommen gesund, ihre Blätter von frisch grüner Farbe.

Am 17. Aug. wurde der Versuch abgebrochen, und von den mit Faulwasser behandelten Versuchstöpfen zwei mit geringem Kalkgehalt (0,27 Proz. und 2,51 Proz.) und zwei mit hohem Kalkgehalt (38,69 Proz. und 41,72 Proz.) zur weiteren Beobachtung aufgestellt. Diese Töpfe wurden nun mit Leitungswasser mäßig feucht gehalten; das Abzugsloch im Boden wurde geöffnet. Nach einiger Zeit bildeten diese Stöckchen wieder wenige, sehr schwächliche Kurztriebe, die bei denjenigen, die auf kalkreichem Boden stockten, das typische Aussehen der Kalkchlorose, bei den anderen normale Farbe hatten. Für eine Erklärung des chlorotischen Prozesses ist dieser Tatbestand, wie wir noch sehen werden, von sehr hoher Bedeutung.

Der mit Faulwasser angestellte Versuch wurde am 13. Aug. mit einer kleinen Variation wiederholt.

IX. Versuch. Vier Töpfe mit Rebenstecklingen wurden in Zinkgefäße von 20 cm Höhe und 20 cm Breite eingestellt, und der Zwischenraum zwischen Topf und Gefäß mit zerschnittenen Wurzeln und zerhackten Gemüsestrünken ausgefüllt. Dann wurde Wasser bis nahezu zur Höhe der Triebansätze zugegeben. Bei dem Kontrollversuch wurden die Töpfe in reines Wasser ohne Beigabe von organischem Material eingestellt. Resultat: Am 22. Aug. war bei zweien der in Faulbrühe stehenden Stecklingen eine Fahlfärbung des Laubes wahrzunehmen. Am anderen Tage verloren hier die unteren Blätter ihren Turgor und zeigten mißfarbige, braune, undeutlich auslaufende Flecken, eine Erscheinung, die sich einige Tage später auch bei den beiden anderen Versuchsobjekten zeigte. Die Blätter der zuerst erkrankten Stöckchen waren inzwischen vollkommen an den Trieben gedörrt. Die Stöcke des Kontrollversuchs ließen oberirdisch noch keine schädliche Wirkung der Ueberstauung erkennen.

Der nachteilige Einfluß der Sumpf- und Bruchwässer auf die pflanzliche Vegetation ist in der landwirtschaftlichen Praxis schon lange bekannt. Für eine Erklärung der Wirkung solcher Wässer seien die Untersuchungen von Popoff[1]) herangezogen. Dieser analysierte das Gas, das sich in

1) Popoff in Pflügers Archiv f. Physiol. Bd. X. p. 113; zit. nach Sorauer,

einer Flasche gebildet hatte, die eine Schlammasse mit Küchenabfällen u. dergl. enthielt. Diese Schlammasse blieb $3^1/_2$ Wochen bei anfänglich 17, später 7—10° C in der Flasche und ergab bei den in Zwischenräumen von 2—4 Tagen vorgenommenen Untersuchungen Gasgemische von folgender prozentiger Zusammensetzung:

1.	11,75 CO_2	2,48 CH_4	4,71 O	81,06 N
2.	12,62 „	5,68 „	81,70	
3.	34,99 „	29,03 „	0,0 O	35,98 N
4.	55,81 „	42,54 „	0,0 „	1,65 „
5.	56,00 „	42,70 „	0,0 „	1,30 „
6.	45,9 „	54,1 „	0,0 „	0,0 „
7.	43,3 „	56,6 „	0,0 „	0,1 „

Der in der Flasche befindliche Sauerstoff der atmosphärischen Luft wurde bei Beginn dieses Versuches zum Teil ausgetrieben, zum Teil bei der Oxydation der faulenden organischen Substanzen verbraucht. Hierbei entstand Kohlensäure, die deshalb quantitativ anfänglich das Sumpfgas überwog.

Die in meinen Versuchen mit Faulwasser beobachteten Schädigungen dürfen zu einem allerdings nur kleinen Teil als eine Wirkung einer zu starken Anreicherung der Bodenflüssigkeit mit Kohlensäure angesehen werden. Im allgemeinen zeigen sich die Reben gegen Kohlensäureanhäufung an ihren Wurzeln wenig empfindlich, wie einer der schon früher angeführten Versuche zeigt. Auch bei dreitägigem Durchleiten von CO_2 durch ein Gefäß mit Wasser, in das die Wurzeln einiger in Erde gezogenen Stecklinge tauchten, konnte an dem Blattwerk fast keine Turgoränderung wahrgenommen worden; nur einige der unteren Blätter zeigten eine geringere Ausstraffung der Blattspreite, wie auch ein geringes Abblassen der grünen Farbe. Es gelang mir aber bei in Wasser gewachsenen Bohnenpflanzen beim Durchleiten von Kohlensäure durch das die Wurzeln umgebende Wasser ähnliche Erscheinungen, wie sie an den oberirdischen Organen der mit Faulwasser behandelten Rebstöcken aufgetreten sind, hervorzubringen. Die dieserhalb angestellten Versuche seien hier an einem Beispiel in aller Kürze wiedergegeben:

X. Versuch. Durch das Wasser eines kleinen 0,5 l haltenden Kulturgefäßes, in das die Wurzeln einer 30 cm hohen, in Wasser gezogenen Bohnenpflanze eintauchten, wurde ein schwacher Kohlensäurestrom geleitet. Schon nach 25 Minuten war an den unteren Blättern eine schwache Verminderung der Turgorspannung festzustellen, die immer mehr zunahm, und nach 2 Stunden hingen diese Organe vollkommen schlaff herab. Nach 4 Stunden wurde das Durchströmen der Kohlensäure unterbrochen. Am folgenden Tage hatten sich die welken Blätter wieder turgeszent aufgerichtet. Ein neuerliches Durchleiten der Kohlensäure durch das Wasser des Gefäßes ergab den gleichen Erfolg wie am Tage vorher. Eine Wiederholung am nächstfolgenden Tage zeigte eine stark abgeschwächte Wirkung der Kohlensäure. Hierauf wurde 5 Tage lang die Kohlensäure in schwacher Strömung durch das Versuchsgefäß geleitet. Eine Turgoränderung der Blattorgane trat nunmehr fast nicht mehr ein, doch begannen die Blätter vom unteren Teil der Triebe ab zuerst gelblich bis gelblichgrau, dann schwärzlich zu werden und abzusterben, nur die Spitzenblätter erhielten sich noch längere Zeit grünlich. Wiederholungen dieses Versuches ergaben ähnliches Resultat.

Auf die nachteilige Wirkung einer Kohlensäureanhäufung im Boden-

wasser hat zuerst Wolf[1]) aufmerksam gemacht. Dieser beobachtete, daß Bohnen- und Gerstenpflanzen welken, wenn in die wässerige Nährlösung CO_2 eingeleitet wird, während sie beim Versetzen in destilliertes Wasser sich bald wieder ausstraffen. Wolf führt die hier auftretenden Verwelkungserscheinungen auf eine infolge Einwirkung der Kohlensäure zu heftige Transpiration der Blätter zurück. Die Untersuchungen Burgersteins[2]) haben wohl gezeigt, daß die Wasserverdunstung in schwachsauren Flüssigkeiten etwas größer ist als in neutralen, doch ist damit noch keine genügende Erklärung der so ungemein schnell und stark hervortretenden Verwelkungserscheinungen der Pflanzen in kohlensäurehaltigem Wasser gegeben. Weit einleuchtender erscheint ein Erklärungsversuch Sorauers[3]), der annimmt, daß infolge einer allzustarken Anhäufung der Kohlensäure im Bodenwasser zunächst die normale Kohlensäureausscheidung der Wurzeln sistiert wird. Es muß so im Innern der Pflanze ein sehr hoher Gasdruck entstehen, der schließlich einen positiven Druck in den Gefäßen erzeugt, wodurch die Leitungsfähigkeit derselben für Wasser erheblich vermindert wird; das Welken ist davon die unmittelbare Ursache.

Neben Kohlensäure und anderen Stoffen entstehen nach den Untersuchungen von Pagel und Oswald[4]) beim Faulen organischer Substanz (Moor) auch Ammoniak, dessen schädliche Wirkung auf die Vegetation der Reben ich durch Versuch V, No. 3 und Versuch VI, No. 4 festgestellt habe. Die Blätter der Versuchspflanzen erhielten eine hell-quittengelbe Farbe und fielen später ab.

Indem wir nun übergehen zu den kausalen Beziehungen, die nach unserer Ansicht zwischen der Wurzelfäule und dem Auftreten der Chlorose bestehen, wollen wir zunächst die wichtigsten der bestehenden Theorieen über die Entstehung der Chlorose in Kalkböden ganz kurz Revue passieren lassen.

Die meisten französischen Schriftsteller vertreten die Ansicht, daß in den Kalkböden infolge der konstanten Aufnahme von Kalk die Pflanzensäfte neutralisiert werden, was zu einer Desorganisation der Zellen führt[5]). Infolge des Mangels an Säuren soll weiterhin die Pflanze weniger befähigt sein, die mineralischen Nährstoffe des Bodens aufzunehmen.

Die hohe ätiologische Bedeutung der Feuchtigkeit im Chloroseprozeß wird allgemein anerkannt, und auch die bedeutenden Weinbauforscher Viala und Ravaz[6]) heben diesen Faktor nachdrücklich hervor. Nach diesen Autoren wirkt die Feuchtigkeit dadurch, daß sie die Lösung des Kalkes begünstigt und so dessen Aufnahme durch die Pflanzen fördert.

Die Lösung des kohlensauren Kalkes im Boden ist eine nur äußerst beschränkte, und sie wird durch ein Uebermaß an Wasser relativ durchaus nicht erhöht. Der Prozentsatz an kohlensaurem Kalk in einem bestimmten Quantum Bodenwasser wird bei Vermehrung dieses Quantums durch Regen oder aufsteigendes Grundwasser stets sich mehr oder weniger gleich bleiben. Das Bikarbonat löst sich besonders in kohlen-

1) Wolf, W., Jahresber. Agrikulturchemie. 1870—72. p. 134.
2) Sitzungsber. d. Kgl. Akademie d. Wissensch. in Wien. 1876. p. 191.
3) Sorauer, l. c. p. 204.
4) Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. IV. Suppl. p. 351.
5) Vergl. Roux, l. c. p. 343.
6) Viala et Ravaz, Les vignes américaines. 1892; zit. nach Houdaille et Semichon, l. c. p. 255.

saurem Wasser in etwas größerer Menge. Doch läßt sich auch nicht ohne weiteres behaupten, daß durch eine Vermehrung des Bodenwassers sich dieses gleichzeitig an Kohlensäure anreichert, woraus ein größeres Lösungsverhältnis des erwähnten Salzes resultieren würde. Unter gewissen Umständen, nach langer Trockenperiode, kann das wohl eintreten, doch in den meisten Fällen ist das Gegenteil die Regel. Und selbst wenn sich das Bodenwasser zeitweilig etwas mehr an Kalksalzen anreichern sollte, so wird eine gesunde Wurzel infolge der osmotischen Vorgänge bei der Wechselwirkung zwischen Zelle und Medium genügend Anpassungsvorrichtungen besitzen, um eine übermäßige Aufnahme gewisser Salze hintanzuhalten. Es sei hier nur auf die Meeresalgen hingewiesen, deren Zellen, trotzdem sich in dem sie umgebenden Wasser etwa 3 Proz. Kochsalz befindet, verhältnismäßig arm an diesem Salze sind, während sie andere Stoffe, wie Kalisalze, Nitrate und Jod in größerer Menge aufspeichern, obwohl diese Materien nur in sehr geringen Mengen im Meereswasser nachweisbar sind.

Roux[1]) will in dem Chloroseprozeß die Wirkung gewisser niedriger Organismen sehen, für die eine neutrale Reaktion der Zellsäfte Lebensbedingung sei.

An und für sich wäre eine derartige Theorie nicht abzuweisen, denn das Vorkommen von parasitären Mikroorganismen in pflanzlichen Zellen ist schon anderwärts festgestellt worden. Doch läßt eine Nachprüfung der Rouxschen Feststellungen durch Dementjew[2]) vermuten, daß die erwähnten Mikroorganismen in diesem Falle nichts anderes sind als Mineralstäubchen, deren scheinbare Lebenstätigkeit auf der Brownschen Bewegung beruht.

Nach Dementjew[3]) sollen gewisse Milben als die Ursache der Chlorose anzusprechen sein. Indem diese sich an den äußersten Spitzen der Wurzeln einfräßen, entblößten sie die Enden der saftleitenden Gefäße und erhielten dieselben längere Zeit in offenem Zustande. Durch diesen Umstand würden die Bodenlösungen ohne Elektion in den Pflanzenkörper eintreten, und die so im Uebermaß aufgenommenen Bodensalze in irgend einer, noch nicht näher geklärten Weise zu einer Zerstörung des Chlorophylls führen oder dessen Neuentstehung verhindern. Außer der Entblößung der Wurzelgefäße sei für den ebengenannten Vorgang noch erforderlich, daß der Boden durch Feuchtigkeit gesättigt sein müsse, damit die Wurzelgefäße in unmittelbare Berührung mit der Bodenlösung kämen. Dieser Umstand erkläre, weshalb die Chlorose nach andauernder Regenzeit erscheine und nach andauernder Dürre verschwinde. Dem Kalkgehalt des Bodens wird keine besondere Bedeutung bei der Entstehung der Chlorose zuerkannt, denn „es kann die ärgste Chlorose in völlig kalkfreiem Boden existieren“.

Von den Versuchsergebnissen Dementjews ist für uns von hohem Interesse, daß es diesem Forscher gelang, durch Aufnehmenlassen einer kalkhaltigen Flüssigkeit durch die endseits entblößten Wurzelgefäße bei einer ganzen Reihe von Pflanzen ausgeprägte Chlorose hervorzurufen. Es muß aber bemerkt werden, daß bei diesen Versuchen nicht etwa die in Kalkböden vorkommende Bodenlösung verwandt wurde, sondern reiner $CaCO_3$, der in einer Flasche mit destilliertem Wasser aufgeschlämmt und dann mit Kohlensäure behandelt wurde. Die so präparierte Lösung

1) Roux, l. c. p. 308 ff.
2) Dementjew, l. c. p. 326.
3) l. c.

wurde täglich oder ein über den anderen Tag erneuert. Durch Zuleitung der Kohlensäure und sehr häufige Erneuerung der präparierten Flüssigkeit wurde aber eine Lösung von Bikarbonat geschaffen, wie sie als Bodenlösung wohl kaum jemals in Weinbergen in der Nähe sonst gesunder Wurzeln vorkommen wird. Darin liegt eine Schwäche der Dementjewschen Beweisführung.

Es muß zugestanden werden, daß die auf den Rebwurzeln lebenden Milbenarten sehr zahlreich sind, und daß sie, wie ich mich gelegentlich von Reblausuntersuchungsarbeiten überzeugen konnte, auch nicht selten die Wurzeln benagen und Gänge darin bohren. Sehr zahlreich habe ich Wurzeln gefunden, die in der Nähe ihrer Spitze eine kurze, blind endigende Höhlung zeigten. Niemals konnte ich aber in dieser Höhlung eine Milbe finden. Es mag sein, daß diese ihren Aufenthaltsort bei Erschütterung der Wurzel rasch verlassen.

Ob die von Dementjew angeführten Milbenarten sämtlich zu den Parasiten zu zählen sind, glaube ich bezweifeln zu dürfen, denn die von ihm beschriebene *Hoploderma ellipsoidalis* habe ich stets nur unter der alten, teilweise abgestoßenen Borke des Rindenkörpers finden können, ebenso deren Eier und Jugendstadien. Das von dem genannten Autor zur Feststellung des Parasitismus seiner Milben angewandte Experiment, wobei abgeschnittene Wurzelstückchen in eine feuchte, mit den Versuchstieren besetzte Büchse gelegt wurden, die dann von diesen sich nach 2 Wochen angegriffen zeigten, entbehrt der zwingenden Beweiskraft, da solch feucht aufbewahrte Wurzelstücke nach einem Zeitraum von 2 Wochen nicht mehr als lebende pflanzliche Organteile angesprochen werden dürfen.

Wurzelmilben sind bei den Reben sowohl in trockenen, wie auch in etwas feuchteren Böden anzutreffen, in nassen Böden dürfte aber der Mangel an Sauerstoff sehr bald ihren Tod herbeiführen. Von Milben beschädigte Rebwurzeln habe ich übrigens ohne Unterschied in gesunden Weinbergen wie auch in chlorotischen angetroffen, so daß sich berechtigte Zweifel erheben, ob die Beschädigungen dieser Tierchen allein, selbst in vorübergehend nassem Boden, der aber im übrigen permeabel ist und die Möglichkeit leichter Diffusion gibt, ohne sekundäre Begleiterscheinungen die Chlorose nach sich zu ziehen vermögen, da die Anreicherung der allgemeinen Bodenflüssigkeit an Kalksalzen und somit auch deren Aufnahme durch die Pflanzen eine beschränkte und meist nur minimale ist.

Anders aber liegen die Verhältnisse, wenn die in schweren, kalkhaltigen Böden in Nässe eingeschlossenen Wurzeln in Fäulnis übergeführt werden. Wir gehen damit zur eigenen Erklärung des Chlorosephänomens über.

Eine in Wasser eingeschlossene Wurzel leidet, wie wir schon auseinandergesetzt haben, in schwer diffusibeln Bodenarten sehr bald Mangel an Sauerstoff. Zunächst tritt nun die intramolekulare Atmung in Tätigkeit. Auch hierbei wird, gerade so wie bei dem normalen Atmungsprozeß, Kohlensäure abgegeben[1]). Infolge Anhäufung der Stoffwechselprodukte tritt allmählich der Tod der

---

1) Nach Wortmann ist die bei der intramolekularen Atmung erzeugte Kohlensäuremenge gerade so groß wie bei dem normalen Atmungsprozeß. (Ueber die Beziehungen der intramolekularen zur normalen Atmung der Pflanzen. Diss. Würzburg 1879.)

Zelle ein, und es beginnen nun die durch Organismen eingeleiteten und weitergeführten Zersetzungsprozesse, bei denen wiederum erhebliche Mengen von Kohlensäure entstehen. Die entstandene Kohlensäure wird zum größten Teil von dem die faulende Wurzel umgebenden Wasser gelöst, und dieses nun mit Kohlensäure stark angereicherte Wasser führt in kalkhaltigen Böden zu einer relativ beträchtlichen Auflösung des Calciumkarbonates in Form des Bikarbonates, dessen Diffusion und dadurch bedingte teilweise Ausfällung, wie wir ja durch einen Versuch illustriert haben, in schweren Bodenarten mehr oder weniger verhindert wird, bezw. nur äußerst langsam erfolgt.

Das in der Nähe der Wurzeln befindliche Kalkquantum ist ein engbeschränktes, und die gebildete Kohlensäure wird hier häufig im Ueberschuß sein. Die Menge des gelösten Bikarbonates wird deshalb in diesen kleinen, partiellen Bodenräumen abhängig sein von der Menge des vorhandenen Kalkes überhaupt, dann aber vorwiegend auch von dessen Feinheitsgrad und Verteilung im Boden, d. h. der Gesamtgröße der Oberfläche aller mit dem kohlensauren Wasser in Berührung kommenden Kalkteilchen. Auch der Grad der Löslichkeit der einzelnen Kalkarten dürfte hierbei gleichfalls ins Gewicht fallen. Die eingangs erwähnte Kontroverse zwischen den Feststellungen von Houdaille und Semichon und den Ergebnissen Schloesings findet hier eine gute Lösung.

Je feiner der Kalk ist, desto größer ist auch dessen Wasserkapazität, desto geringer seine Flüssigkeitsdiffusion, beides Momente, die die Fäulnis der Wurzeln fördern.

Die durch die Fäulnis bloßgelegten Gefäße leiten nun das gelöste Calciumbikarbonat zugleich mit den Fäulnisprodukten nach den Blättern und zwar infolge Ausschaltung der Zellmembranen der Wurzelhaare, in ununterbrochenem Strome. Die großen Mengen von Bikarbonat, die in dieser Weise dem Pflanzenkörper zugeführt werden, bewirken allmählich eine Abnahme der sauren Reaktion der Säfte bis zu deren Neutralisation oder gar Alkalität. So fand Gouirand[1]) in chlorotischen Blättern aus einem Kalkboden 2,63 Prom., in grünen Blättern aus demselben Boden 4,65 Prom. und in grünen Blättern aus nicht kalkhaltigem Boden 5,73 Prom. Säure.

Es darf die Vermutung ausgesprochen werden, daß die Gelbfärbung des Laubes in manchen Fällen eine Folge der alkalischen Reaktion der Zellsäfte ist, die eine erhöhte Wirkung der oxydierenden Kraft des passiven Sauerstoffs bedingt[2]) und dadurch eine Umwandlung des Chlorophylls in Hypochlorin herbeigeführt.

Eine totale Wurzelfäule führt auch in kalkarmen Böden zu einer Vergilbung des Laubes, die an den unteren Blättern beginnt und nach oben fortschreitet. Dieser Vorgang ist das Resultat eines Nährstoffmangels, wobei die oberen Blätter die unteren allmählich entleeren.

Meist ist die Wurzelfäule nur eine partielle (es werden vorwiegend

1) Die Weinlaube. 1897. No. 32. p. 374.

2) Vergl. Pfeffer, W., Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen. (Abhandl. der math.-phys. Klasse d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. Bd. XV. 1890. p. 410 u. 451.)

nur die tieferliegenden Wurzeläste von ihr ergriffen), und infolgedessen ist die gänzliche Neutralisation oder gar Alkalität der Säfte selten. Die Säure wird durch die übermäßige Aufnahme des Bikarbonates nur teilweise abgestumpft, da immer noch eine geringe Anzahl von Wurzeln normal funktionieren. Diese Verminderung der Säure in den Pflanzensäften erschwert auch den noch gesunden Wurzeln die Aufnahme der Nährstoffe, besonders aber des Kalis, dessen Verbindungen im Boden zumeist nur unter der Wirkung einer Säure löslich und aufnehmbar werden.

Der Rebstock erhält unter diesen Umständen immerhin noch so viel Nährstoffe zugeführt, daß er sein Wachstum fortsetzen und notdürftig vollenden kann. Doch infolge des Kalimangels können die Blätter nicht mehr normal assimilieren, sie vermögen nicht mehr die Kohlensäure der Luft zu zerlegen, was allmählich eine tiefgreifende Störung im ganzen Pflanzenorganismus herbeiführt. Die Ausbildung des Chlorophylls ist eine mangelhafte, die Stärkebildung fast aufgehoben, und die Zuwachsgröße nimmt immer mehr ab. Die jetzt gebildeten Blattorgane bleiben klein, die Internodien werden sehr kurz. Bald zeigen sich auch an den Blättern die weiteren typischen Merkmale des Kalimangels, wie sie von Wilfarth und Wimmer[1]) bei verschiedenen Pflanzen festgelegt wurden. Die Blätter krümmen sich eigenartig ein, wobei zumeist die konvexe Seite nach oben gerichtet ist. Die Rippenpartieen bleiben grün, während die Zwischenfelder gelblich bis gelbweiß werden. Dann treten am Rande des Blattes Absterbungserscheinungen auf, die sich intercostal ausbreiten (siehe Tafel I).

Durch Wilfarth und Wimmer (l. c.) wurde weiterhin festgestellt, daß die Kalimangelpflanzen sehr leicht an ihren Wurzeln zur Fäulnis neigen. Dieser Umstand ist also geeignet, bei den Reben die Primärursache der Chlorose, die Wurzelfäule, zu fördern, und das wechselseitige Ineinandergreifen dieser beiden ungünstigen Vegetationsfaktoren verstärkt unter sonst gleichbleibenden Bedingungen immer mehr das Krankheitsbild: das Wachstum der Triebe wird immer geringer, der Stock tritt in das Stadium der Cottis, das dem Tode vorangeht.

Wenn meine Theorie über die Entstehung der Chlorose in Kalkböden richtig ist, dann müssen alle Momente, die günstige Bedingungen für die Wurzelfäule bieten, in gleicher Weise die chlorotische Erkrankung verschärfen, und umgekehrt müssen sich alle bereits festgestellten chloroseerzeugenden Faktoren in der erörterten Weise begründen lassen. Für einen Teil derselben ist das bereits geschehen, und wir wollen uns hier eine Wiederholung ersparen. Einige weitere Belege in dieser Richtung seien aber noch angeführt.

Die Chlorose erscheint gewöhnlich erst mit der wärmeren Jahreszeit. Auch die Wurzelfäule nimmt erst bei erhöhter Temperatur größere Dimensionen an, wie das sehr deutlich aus den Wehmerschen Versuchen mit Kartoffeln hervorgeht. Bei Abwesenheit von Sauerstoff wurde durch Chudiakow[2]) nachgewiesen, daß die

---

1) Wilfarth, H. und Wimmer, G., Die Kennzeichen des Kalimangels an den Blättern der Pflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. p. 82.)

2) v. Chudiakow, N., Beiträge zur Kenntnis der intramolekularen Atmung. Jahrb. Bd. XXIII. 1894. p. 333; zit. n. Biedermanns Centralbl. 1895. p. 111.)

Pflanzen bei höheren Temperaturgraden schneller als bei niederen Temperaturen zu Grunde gehen. Saaten können oft wochenlang in Wasser liegen, ohne wesentlich geschädigt zu werden, wenn die Temperatur eine niedrige ist[1]).

Organische Substanzen, so auch Stallmist, reduzieren bei ihrer Zersetzung den Sauerstoff der Bodenflüssigkeit und fördern somit besonders in leichter diffusiblen Böden bei Gegenwart stagnierenden Wassers die Wurzelfäule. Auf die chloroseverschärfende Eigenschaft der genannten Substanzen ist früher bei einer anderen Gelegenheit schon hingewiesen worden.

Sehr häufig beobachten wir das Auftreten der Chlorose nach Schlagregen, die die Bodenoberfläche zuschlämmen, sowie nach einer Hackarbeit bei nassem Boden, wobei gleichfalls die Bodenporen an der Oberfläche verschmiert werden und so den Gaswechsel zwischen Innen- und Außenluft erschweren. Durch Behacken eines auch in tieferen Schichten übermäßig feuchten Bodens wird die kapillare Wasserleitung im Boden von unten nach oben unterbrochen, und die Feuchtigkeit oft in großen Mengen in ihm zurückgehalten. Man kann deshalb nicht selten früh gehackte Weinberge gelb werden sehen, während dicht daneben liegende, ungehackte und verunkrautete Rebfelder in gesundem Grün dastehen. Es muß hierbei jedoch erwähnt werden, daß bei diesem Effekt auch die durch das Wasser veränderte Bodenwärme mitspricht. Darüber jedoch später. Die Wirkung der eben beregten Verhältnisse auf die Wurzeln ist bereits erörtert worden.

Denselben Einfluß äußern alle Düngesalze, die ein Verkrusten der Bodenoberfläche herbeiführen. Es gilt das namentlich für diejenigen, die Natron enthalten, also für unsere meisten Kalisalze und den Chilisalpeter. Die ungünstigen Erfahrungen, die man mit dem Kainit in schweren Böden bei der Rebkultur gemacht hat, sind teilweise diesem Umstande zuzuschreiben. Auf die chloroseerzeugende Eigenschaft des Chilisalpeters wurde im Jahre 1888 durch Cazeaux-Cazalet[2]) hingewiesen. Nur in der angegebenen Weise kann dieselbe nach unserer Auffassung erklärt werden.

Ein nachträgliches starkes Sacken schwerer Böden hat häufig Chlorose im Gefolge, was mit der dadurch erhöhten Wasserkapazität und dem verminderten Vermögen der Durchlüftung und Diffusion, Bedingungen der Wurzelfäule, zusammenhängt. Ich konnte in chlorotischem Terrain nicht selten die Beobachtung machen, daß junge Weinberge üppig gediehen, während ältere, dicht danebenliegende Rebfelder stark an der Chlorose zu leiden hatten. Ueber die chloroseempfindliche Sorte Riparia berichten Czéh und v. Molnár[3]), daß diese auch in strengem Boden gedeihe, „solange der Boden sich durch Senkungen noch nicht ganz zusammengedrückt hat". In ähnlicher Weise äußert sich Sahut[4]).

1) Vergl. Sorauer, l. c. p. 202.

2) Siehe Roux, l. c. p. 372.

3) Czéh, A. und v. Molnár, St., Anleitung zum Weinbau in Reblausgebieten. 1895. p. 101.

4) Sahut, F., La jaunisse ou chlorose des vignes (Progrès agr. et vit. T. VI. 1886. p. 93): „La composition chimique du terrain et particulièrement l'abondance de la silice et du fer, paraissent agir surtout sur la végétation de la vigne, tandisque la perméabilité du sol et surtout du sous-sol semble exercer aussi une non moins grande influence, en assurant la durée de la plantation; c'est-à-dire sa conservation en bon état pendant de longues années. C'est ce qui explique comment on voit souvent des

Die natürliche Beimengung von Ton in Kalkböden äußert nach Roux[1]) verschiedenartige Wirkung gemäß seiner Proportion und seiner Verbindung. „Wenn der Kalk die siliciumhaltigen Körnchen des Tons umgibt, ist die Kontaktoberfläche des Kalkes mit den Wurzeln größer, und der Ton hat keinen günstigen Einfluß. Wenn dagegen der Ton in genügendem Verhältnis vorhanden ist, um die Kalkkörner einzukleiden, wird er eine abschwächende Wirkung haben.“ Diese Erklärung kann in ähnlicher Fassung auch für unsere Theorie verwandt werden. Werden die in der Nähe von faulenden Wurzeln befindlichen Kalkteilchen durch schwer durchlässigen Ton eingehüllt, dann kann der Kalk nicht zur Wirkung gelangen, die Fäulnis wird weniger leicht eintreten, und ist sie einmal da, so wird das im Bereiche der Wurzel befindliche kohlensäurehaltige Wasser infolge der Unzugänglichkeit der Kalkpartikelchen sich nur in geringem Grade mit dem Bikarbonat sättigen können und vice versa.

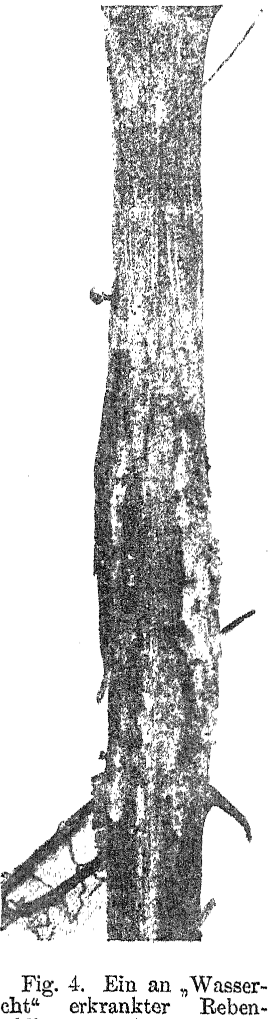


Fig. 4. Ein an „Wassersucht“ erkrankter Rebensteckling.

Die Wassersucht der Reben.

Bei meinen Versuchen trat an dem im Boden befindlichen Teile der Rebenstecklinge bei dauernd größerem Feuchtigkeitsgehalte der Bodenluft eine eigenartige Erkrankung auf, die unter den besagten Verhältnissen bei anderen Pflanzen schon öfters beobachtet und hier mit dem Namen „Wassersucht“ belegt wurde.

An einer oder mehreren Stellen schwillt der Steckling tonnenartig an, und die äußeren Gewebeteile werden hier und da entzweigesprengt und klaffen in längeren oder kürzeren Strecken spaltig auseinander, wobei ein schneeweißes, spongiöses Gewebe bloßgelegt wird (siehe nebenstehende Fig. 4). Dieses lockere Gewebe offenbart sich unter dem Mikroskope als ein hypertrophiertes Rindenparenchym, bestehend aus einer großen Anzahl rundlicher oder länglicher, stark vergrößerter Zellen, die in ganz losem Verbande stehen und sehr große Intercellularen bilden, worauf die weiße Farbe dieser Rindenwucherung zurückzuführen ist. Die von mir am meisten beobachteten Größenverhältnisse dieser Zellen waren folgende: 32 μ : 28 μ, 36 μ : 28 μ, 72 μ : 56 μ, 80 μ : 36 μ, 120 μ : 32 μ. Ihr Inhalt ist plasmaarm und sehr wasserreich, die Zellenmembran sehr dünn.

Legt man die erkrankten Stecklinge eine Zeitlang in trockene Luft, dann sinkt das schwammartige Gewebe sehr bald zusammen und bräunt sich.

---

plantations de Riparia prospérant admirablement les premières années, mais dont la belle végétation malgré cela, ne se soutient pas et qui ne tardent pas ensuite à dépérir.“

Nach Sorauer[1]), der diese Rindenkrankheit bei Ribes aureum genauer studiert hat, ist nach dem anatomischen Befunde die Ursache derselben in einer lokalen Anhäufung von Wasser zu suchen. Er sagt: „Ich bin nicht der Ansicht, die in der Praxis ausgesprochen wird, daß eine überreiche Ernährung der Pflanze die Schuld trage, sondern einfach, daß an einzelnen Stellen der Achse ein Wasserüberschuß sich geltend macht. Wäre hier gleichzeitig eine Anhäufung von plastischem Material, so würde sich dieselbe durch reiche Zellvermehrung vorzugsweise äußern; das ist aber nicht der Fall. Zählt man die Zellen an derselben Stammhöhe an der gesunden und kranken Seite, dann findet man nur ein unbedeutendes Uebergewicht an letzterer. Es ist demnach vorzugsweise Zellstreckung, also vermehrte Turgeszenz, d. h. vermehrter Innendruck, hervorgebracht durch übermäßige Wasseraufnahme, zu finden."

Ob diese Ansicht in allen Fällen Richtigkeit besitzt, wage ich nicht zu entscheiden; auf jeden Fall darf die Anwesenheit von reichlichem Wasser bezw. einer dampfgesättigten Bodenluft als eine notwendige Bedingung dieser Erkrankungsweise angesehen werden. Sehr häufig habe ich wassersüchtige Reben gelegentlich von Reblausuntersuchungsarbeiten auch in den Weinbergen von Rheinhessen angetroffen, immer hatte dann das bestockte Terrain aber frischen oder feuchten Boden.

Auch in anderen Weinbaugebieten wird diese Krankheit unzweifelhaft gleichfalls festzustellen sein; doch ist sie trotz ihrer Häufigkeit nirgends in der Weinbauliteratur angeführt. In den Kreisen der gebildeten Praktiker wird dieselbe allgemein mit der als Rhizomorpha subcorticalis bekannten Erscheinungsform der Dematophora necatrix zusammengeworfen.

In ausgesprochen nassen Böden siedeln sich an den verletzten Stellen bald Bakterien an und leiten die Fäulnis ein, die von der Rinde auf den Holzkörper übergeht und hier kleinere oder größere Partieen fascikulären Gewebes bloßlegt, ein Umstand, dessen ätiologische Bedeutung für den ikterischen Prozeß uns ja bekannt ist. Später werden diese Wunden allerdings zumeist vom gesunden Holzkörper durch Bildung einer Korkzone abgetrennt.

Die Bekämpfung der in kalkreichen Böden auftretenden Chlorose.

Ehe man zur Bekämpfung einer Krankheit schreitet, muß man sich zunächst über deren Ursachen vollkommen klar sein. Für die chlorotischen Erscheinungen in Kalkböden darf in den meisten Fällen, wie wir gesehen haben, Fäulnis der Wurzeln, bedingt durch übermäßigen Wassergehalt des Bodens oder Abschluß der Bodenporen und dadurch gehemmter Gaswechsel der Bodenluft bei Gegenwart von Feuchtigkeit, verantwortlich gemacht werden. Im nachstehenden sollen nur ganz kurz eine Anzahl Methoden angegeben werden, wie diese Uebelstände zu beseitigen sind, oder wie ihnen entgegengearbeitet werden kann.

a) Drainage und Bodenlockerung.

Ein Ueberschuß von Wasser im Boden ist nach Möglichkeit durch eine sachgemäße Drainage zu entfernen. Tritt das Bodenwasser hierbei in größeren zusammenhängenden Bezirken schädigend auf, so wird eine gemeinsam durchgeführte Röhrendrainage die beste Abhilfe schaffen. In Rheinhessen hat man in dieser Weise in einigen Orten den besten

1) Sorauer, P., Handbuch f. Pflanzenkrankh. 1886. p. 235.

Erfolg erzielt. Die Weinberge in den hier in Frage kommenden Meliorationsgebieten sind nunmehr vollkommen frei von Chlorose und zeigen üppigen Wuchs. Als Beispiel einer solchen Weinbergsdrainage sei diejenige von Friesenheim hier angeführt[1]).

Diese wurde in den Jahren 1883, 1888 und 1890 auf genossenschaftlichem Wege ausgeführt und zwar mit folgenden Kosten:

1882:	Flur I—V:	76,00 ha	mit M. 18 595,67	= M. 244,7	pro ha
1883:	„ VII:	7,74 „	„ „ 2 522,66	= „ 325,9	„ „
1890:	„ VI:	8,77 „	„ „ 1 912,75	= „ 218,1	„ „
1890:	„ VIII:	14,66 „	„ „ 2 875,00	= „ 196,1	„ „

Die drainierte Fläche besteht ungefähr zur Hälfte aus Weinbergen. Der Boden ist zumeist milder Septarienton, hie und da ist auch etwas Löß.

Die Saugdrains hat man in die Richtung des stärksten Gefälles gelegt in Abständen von 12—20 m bei 1—1,3 m Tiefe.

Das Resultat war folgendes: „Schädliche Bodennässe ist jetzt nicht mehr vorhanden, und es hat die Trockenlegung die Vegetation der Kulturgewächse in überraschender Weise begünstigt. Die beteiligten Weinbergsbesitzer äußern sich über die Vorteile der Weinbergsdrainage in folgender Weise:

a) Das Holz treibt und reift 8—14 Tage früher.

b) Der Mehrertrag kann pro Hektar und Jahr auf 500 M. veranschlagt werden.

c) Die Qualität des Weines ist eine viel bessere geworden; ein Stück Wein (1200 l) ist jetzt etwa 100 M. mehr wert als früher.

d) Die Düngung der Weinberge kommt jetzt voll und rasch zur Wirkung, was früher nicht der Fall war.

e) Der Kaufpreis, welcher früher nur 800 M. pro Hektar betrug, ist infolge der Brauchbarkeit zur Weinbergsanlage auf 8000 M. gestiegen.

f) Die Pacht betrug früher 26 M. pro Hektar und beträgt jetzt 80 M. pro Jahr.

g) Das gelbe Laub und die kümmerliche Entwickelung der Weinberge sind vollständig verschwunden.

Das Meliorationskapital ist aus der Landeskulturrentenkasse zu 4 Proz. Zinsen und 1 Proz. Amortisation entnommen worden. Rechnet man noch 1 Proz. als Nebenkosten, so betragen die Jahreskosten für die Weinbergsdrainage 6 Proz. von rund 325 M. = 19,50 pro Hektar.“

Nicht immer wird sich die Anlage einer solchen Röhrendrainage als zweckmäßig erweisen, da das chlorotische Terrain oft eng begrenzt ist und häufig innerhalb einer Mulde oder eines umschränkten, oberirdisch nicht wahrnehmbaren Einsenkungsfeldes einer undurchlässigen Bodenschicht liegt. Nicht selten schließt eine dünne Lage schweren Bodens in geringer Tiefe von der Bodenoberfläche auf eine kürzere Strecke die tiefer liegenden Bodenschichten von der atmosphärischen Luft ab, erschwert in starkem Maße den Gaswechsel und fördert die Ansammlung von Wasser im Bereiche der Wurzeln. Auch die reichlichere Zuführung des Wassers zu den Fußlagen und das hierdurch bewirkte Vergilben rechtfertigt nicht in allen Fällen die Anlage einer immerhin recht kostspieligen Röhrendrainage, da das Erkrankungsgebiet oft nur ein sehr kleines ist.

In allen diesen letztgenannten Fällen wird die Anlage von Sicker-

1) Nach Mitteilungen des Landeskulturinspektors Klaas auf dem Weinbau-Kongreß zu Worms. Bericht 1890. p. 36.

dohlen, sogenannten Schluckern, meist von wahrnehmbar günstigem Erfolge sein. Man wirft in Abständen von 10—20 m innerhalb des Chlorosegebietes Gruben von 3 m Tiefe und 1,50 m Breite aus und füllt sie mit Steinbrocken, Flußwacken, zerkleinertem Backsteinschmolz u. s. w. bis zur Höhe der Rodsohle an. Hierauf kommt eine 30 cm hohe Lage Kies, der mit dem Weinbergsboden überdeckt wird. Der überschüssige Boden wird auf dem umliegenden Terrain möglichst gleichmäßig verteilt. Durch radial zuleitende, mit lockerem Material teilweise angefüllte und dann wieder überdeckte Gräben läßt sich die Wirkung einer solchen Drainage verstärken.

Liegt dicht unter der Rodsohle eine dünne, undurchlässige Bodenschicht, so wird es sich, falls diese Veranlassung zur Wasseransammlung gibt, empfehlen, diese gelegentlich der Rodungsarbeiten häufig zu durchbrechen. Solche Verhältnisse trifft man in Rheinhessen beispielsweise an verschiedenen Orten der Gemarkung Horrweiler, wie ich dies in Gemeinschaft mit Herrn Direktor Linckh, derzeit in Alzey, vor einigen Jahren durch Bohrungen feststellen konnte.

Wie aus meiner früher angeführten Enquete ersichtlich ist, hat in allen Fällen eine angewandte Kohlenschlackendrainage günstig bei der Bekämpfung der Chlorose gewirkt. Hierbei werden zwischen den Zeilen Gräben von 40 cm Tiefe und 30 cm Breite ausgeworfen, und diese 25 cm hoch mit Schlacken gefüllt und dann mit Erde wieder überdeckt. In dieser Weise benötigt man für einen Morgen Weinberg ($^1/_4$ ha) etwa 126 cbm Schlacken, die in 9 Waggons verladen werden können. Man erhält diese Schlacken bei den Bahnmeistereien zum Preise von 0,80—1,00 M. pro Kubikmeter. Die Kostenberechnung stellt sich dann etwa wie folgt:

9 Waggon Schlacken	113,40 M.
In einem Waggon sind etwa 15 Karren à M. 1,50 Fuhrlohn	202,50 „
36 Arbeitstage à M. 2,00	72,00 „
	387,90 M.

Hierzu kommt noch die Fracht, die sich bei 50 km Entfernung auf etwa 20 M. pro Waggon bei 14 cbm Ladung stellt, so daß die Gesamtunkosten einer derartigen Melioration rund etwa 550 M. pro Morgen betragen.

Beim Ausheben der Gräben darf eine Tiefe von 40 cm nicht überschritten werden. Es ist durchaus falsch, die Schlacken tiefer zu vergraben, da dann die darüberliegende Bodenschicht zu mächtig wird, und die Schlackenluft nicht in genügender Verbindung mit der Außenluft bleibt. Dies ist aber für ihre Wirksamkeit von vorwiegender Bedeutung, was aus meinen diesbezüglich mit Kartoffeln angestellten Versuchen klar hervorgeht. Die Schlacke soll in dem Abstande von der Oberfläche liegen, daß sie bei den Hackarbeiten gerade angeschlagen wird.

Die Schlackendrainage kam in den 40er Jahren zuerst in den Gemarkungen Oppenheim und Dienheim in Rheinhessen zur Anwendung, weshalb man diese Methode auch als „Oppenheimer Drainage“ bezeichnet.

In schweren Böden, die leicht zum Verkrusten neigen, wirkt schon ein oberflächliches Auftragen der Schlacken recht vorteilhaft. Diese Maßnahme vermehrt nach den Erfahrungen von Oberlin[1]) weiterhin in erheblichem Grade die Erträge.

1) Oberlin, Bodenbedeckung mit Schlacken oder Schiefer beim Weinbau. (Weinbau und Weinhandel 1906. p. 182.) Im Jahre 1900 wurde eine mit Pinotreben bepflanzte Versuchsparzelle des Weinbauinstitutes in Colmar 15 cm hoch mit Schlacken

Die günstige Wirkung der Schlacken ist sowohl den physikalischen, als auch teilweise den chemischen Eigenschaften dieses Meliorationsmittels zuzuschreiben. Vor allem wird eine vorzügliche Durchlüftung des Bodens durch sie herbeigeführt, an der auch die tieferen Bodenschichten teilnehmen können. Wir wissen aber, daß ein häufiger Gasaustausch der Gesunderhaltung der Wurzeln, namentlich in feuchten Böden, außerordentlich dienlich ist.

Dann wirkt die Schlacke aber auch noch chemisch durch ihren Gehalt an Schwefelsäure, der nach Wolff[1]) etwa 1 Proz. beträgt. Wenn wir einem Morgen 9 Waggon Kohlenschlacken zuführen, so entspricht das einer Gabe von etwa 18 Ztr. Schwefelsäure, die wenigstens teilweise im Laufe der folgenden Jahre zur Wirkung kommt. Die Bedeutung der Schwefelsäure bei der Heilung der Chlorose liegt aber, wie wir schon zu erwähnen Gelegenheit hatten, hauptsächlich in deren bodenaufschließenden Wirkung, insbesondere der Löslichmachung der Kaliverbindungen.

Eine Schlackenbedeckung des Bodens hindert das Verkrusten desselben und gestattet bei der großen, dadurch bewirkten Verminderung der Hauarbeiten ein Ausbreiten der Wurzeln in den oberen, nährstoffreicheren Bodenschichten. Auch die Bodenerwärmung erfährt durch eine solche Bedeckung eine günstige Beeinflussung, worauf wir später nochmals zurückkommen werden.

Dem nachteiligen Verkrusten schwerer Bäden kann auch durch Anwendung größerer Mengen gebrannten Kalkes entgegengearbeitet werden. Der Kalk, namentlich in Form des Hydroxydes, gibt den tonhaltigen Böden eine bleibende Krümelstruktur und bewahrt sie vor dem Zuschlämmen. Pro Morgen wird man immerhin etwa 30 Ztr. dieser Kalkverbindung benötigen, um einen längere Zeit anhaltenden Effekt zu sichern. Da diese Menge im Vergleich zu der im Bereiche der Wurzeln befindlichen Bodengröße nur verschwindend klein ist, so resultieren selbst in kalkreichen Böden aus dieser Zufuhr keine Nachteile.

b) Flaches Roden (Rigolen) und Verwendung kurzer Setzlinge.

Vielfach findet man in der Weinbauliteratur zur vorbeugenden Bekämpfung der Chlorose tiefes Roden angegeben. Das ist in schweren, kalkreichen Böden eine sehr verwerfliche Maßnahme, die das Uebel nur verschlimmern kann. Infolge der tiefen Lockerung des Bodens breiten sich die Wurzeln hauptsächlich in den unteren, nun auch nährstoffreicheren Schichten aus, und die Seiten- und Tagwurzeln werden nur schwach entwickelt. Die Reben gedeihen vorerst vortrefflich. Doch nach einer Reihe von Jahren, nachdem sich der Boden gesackt hat, fangen die Stöcke an zu kränkeln, werden gelbsüchtig und unfruchtbar. Die Fußwurzeln befinden sich nun in ungünstigen Lebensbedingungen infolge

---

bedeckt. Das Unkraut wurde dadurch fast vollkommen unterdrückt, und wurden fast keine Bodenarbeiten vorgenommen. Schon sehr bald machte sich ein deutlicher Unterschied zwischen der bedeckten und der nicht bedeckten Vergleichsparzelle bemerkbar, der sehr zu Gunsten der Schlackenbedeckung sprach. Dies kam aber auch im Ertrag zum Ausdruck. Die durchschnittlichen Erträge der 3 folgenden Jahre belaufen sich in ihrer Berechnung pro Hektar auf:

bei Schlackenbedeckung	10560 kg	oder 79,20 hl Wein	à M. 32,00	M. 2534,30
ohne Schlacken	6921 „	„ 51,91 „	„ à „ 32,00	„ 1661,12

was bei Schlackenbedeckung einen Mehrertrag von jährlich M. 873,28 pro ha ergibt.

1) Wolff, E., Düngerlehre. 1892. p. 249.

eines zu hohen Feuchtigkeitsgehaltes des Bodens in Verbindung mit ungenügendem Luftwechsel. Bei der Untersuchung werden wir diese bei fortgeschrittener Krankheit häufig abgestorben und in fauliger Zersetzung befindlich antreffen.

Die hierher gehörigen Beispiele von Czéh und Sahut sind uns ja bekannt. Ueber einen analogen Fall berichtet Frank[1]). Bei Kiefern wurde die Wurzelfäule dadurch veranlaßt, daß in einer gewissen Bodentiefe sich eine für Luft schwer durchgängliche Schicht befand, die das Eindringen der Pfahlwurzel in der Jugend, in einer Zeit, in der die Luftzufuhr durch die Bodenoberfläche noch nicht durch eine Nadel- und Humusdecke gehemmt war, gestattete, nach einem gewissen Alter des Bestandes aber ein Absterben dieser Wurzeln herbeiführte. „Wo eine die Wurzeln überhaupt nicht durchlassende Bodenschicht, z. B. fester Ortstein, sich findet, da tritt die Wurzelfäule nicht auf, vielmehr akkommodieren sich von Jugend auf die Wurzeln den gegebenen Verhältnissen, biegen oberhalb jener Schicht in horizontaler Richtung um und bleiben in der Folge lebend."

Wir müssen in kalkreichen, schweren Böden, die erfahrungsgemäß leicht Chlorose erzeugen, durch flaches Roden ein zu tiefes Eindringen der Fußwurzeln in den Untergrund zu vermeiden suchen. Eine Rigoltiefe von 0,40—0,45 m wird hier vollkommen ausreichend sein. Hierdurch kommt die nährstoffreichere Krume gleichfalls in geringere Tiefe, und der größte Teil des Wurzelsystems wird in trockneren, lufthaltigeren Schichten entwickelt. Hand in Hand damit muß die Verwendung von kürzerem Setzholz gehen. Hier genügt eine Länge von 30 cm. Die Vorteile der Verwendung kurzer Setzreben hat man bei Gebrauch der amerikanischen Reben als Direktträger oder als Unterlagen übrigens in der Praxis schon lange erkannt.

Es ist bei Ausführung der Flachrodung die Befürchtung einer ungenügenden Wasserversorgung der Stöcke in trockenen Jahren grundlos, denn ein kleiner Teil der Wurzeln wird trotz der unterlassenen Auflockerung durch vorhandene kleine Bodenspalten oder vor allem durch die Löcher des Regenwurms in tiefere Bodenschichten eindringen und eine genügende Wasserzuführung veranlassen. Ganz abgesehen davon werden auch die oberen, im Bereiche der Wurzelausbreitung liegenden Regionen in den hier in Betracht kommenden Böden nur selten unter Trockenheit zu leiden haben, zumal die Durchführung unserer Methode sich doch meist auf mehr ebene Lage beschränkt, da die Chlorose in steil abhängigem, nach Süden geneigtem Terrain nur selten oder doch nur in geringem Grade auftritt. Ich verkenne durchaus nicht den Wert einer tiefen Bodenlockerung für unsere Reben, die in den meisten Böden von vortrefflichem Erfolge ist, aber in chlorosierenden Kalkböden, wie in allen schweren, feuchten Böden ist sie von großem Nachteil.

Die Hackarbeiten dürfen in chlorosierendem Terrain erst nach völliger Abtrocknung des Bodens vorgenommen werden, um den kapillaren Aufstieg des Wassers möglichst lange im Gange zu halten. Eine Hauarbeit vor Ende Mai oder Anfang Juni ist in solchen Böden nicht zweckdienlich. Eine Bodenlockerung vor Winter (Wintergraben, Zuhacken) ist hier unter allen Umständen zu vermeiden, da diese wesentlich die Wasseransammlung im Boden vermehrt. Ueberhaupt soll in den chloro-

1) Frank, R., Die Ersetzungserscheinungen des Holzes. 1878. p. 76.

Der beste Prüfstein für ein derartiges physiologisches Wertmerkmal ist unzweifelhaft die Leistung an sich, das Verhalten des Individuums beim Hineinpflanzen in jene Verhältnisse, in deren Bedingungen es eine wirtschaftlich günstige Reizwirkung äußern, bezw. sich neutral verhalten soll. Doch dieses Experiment ist in vielen Fällen zu langwierig, ja häufig nicht einmal durchführbar, und man hat deshalb nach anderen Merkmalen gesucht, mit denen die ins Auge gefaßte Leistungseigenschaft korrelativ geeint ist. So haben wir in der Getreidezucht und bei dem Rübenbau gelernt, die Leistungsfähigkeit einer Sorte aus dem Exterieur zu beurteilen.

In der Rebenkultur ist seither noch kein Versuch gemacht worden, unter diesem Gesichtspunkte, also in Rücksicht der korrelativen Beziehungen zwischen Leistung und Exterieur, eine Sichtung der Sorten in Untervarietäten vorzunehmen. Doch weisen zwei empirische Beobachtungsfälle in der Literatur auf die praktische Bedeutung dieses Gedankenganges hin. Nach Viala[1]) finden wir bei der kleinblätterigen Rupestris Formen mit beiderseits glänzenden Blättern, die sich durch einen besonders kräftigen Wuchs auszeichnen. Es gibt aber auch solche, deren Blätter oberseits matt und unterseits gelbgrün sind. Diese Varietäten haben einen weniger kräftigen Wuchs und neigen sehr zur Chlorose. Den zweiten Fall erwähnt Kober[2]). Nach ihm „krautern“ bei dem Velteliner besonders die Stöcke, die ein tiefgelapptes Blatt haben, weniger jene mit mehr rundem Laub.

Ebenso wie in den alten Reblausherden in Oestereich, so konnte ich auch in den Chloroserevieren Rheinhessens hier und da mitten zwischen in weitem Umkreis chlorotischen und abgestorbenen Stöcken solche von gesundem Aussehen und üppigem Wuchse feststellen. Oft waren diese Stöcke ja zumeist einer anderen Sorte, vorwiegend dem Trollinger, angehörig, doch in zwei Fällen war die Sorte mit den kranken Stöcken identisch: es war Sylvaner. Den einen Fall habe ich photographisch festgehalten, er ist auf Tafel II zur Darstellung gebracht. Wir sehen inmitten zurückgegangener und abgestorbener Stöcke 2 kräftige, gesunde, ältere Stöcke und dicht dabei 2 jüngere. Diese 4 Stöcke sind, wie ich durch Nachgraben ermittelt habe, aus einem Stock durch Vergruben und Ablegen hervorgegangen. Sie hatten üppig grünes Laub, während alle Reben in weiterem Umkreis chlorotisch oder abgestorben waren. Einen zweiten, etwas weniger markanten Fall habe ich in derselben Gemarkung (Zotzenheim) beobachtet.

---

1) Siehe Babo und Mach, Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft. 1893. p. 217.

2) Weinlaube. 1901. No. 10. p. 110.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ein Pflanzentumor bakteriellen Ursprungs.

[Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture, Washington.]
Von **Erwin F. Smith** und **C. O. Townsend.**

Die Zahl der Pflanzengeschwülste, von denen man durch genaue Versuche bestimmt weiß, daß sie durch Bakterien hervorgerufen werden, ist nicht sehr groß. Wenn eine neue Geschwulst zweifellos bakteriellen Ursprunges entdeckt wird, so ist dies demnach für die Pflanzenpathologen von hohem Interesse; auch für die Tierpathologen, besonders für diejenigen, die sich mit der Ursache krebsiger Geschwülste abgeben, entbehrt eine solche Entdeckung des Interesses nicht.

Seit zwei Jahren haben sich die Verff. mit einem Tumor oder einer Galle beschäftigt, die an kultivierten Gänseblümchen oder Tausendschönchen spontan auftritt. Es hat große Schwierigkeiten bereitet, den Mikroorganismus zu isolieren und in gefärbten Schnitten unzweifelhaft sichtbar zu machen. Erst in letzter Zeit ist es gelungen, die Bakterien, die man in ungefärbten Gewebsstücken in geringer Anzahl sehen kann, mit Erfolg auf Platten zu züchten. Mit Kulturen, die von gegossenen Platten aus angelegt wurden, konnten die Gallen in den letzten Monaten reichlich und wiederholt künstlich erzeugt werden, wobei die Einimpfung durch Nadelstiche stattfand. Aus so erhaltenen Gallen konnten die Mikroorganismen wieder zu Reinkulturen isoliert und damit wiederum die Krankheit künstlich erzeugt werden; dazu wurden Kolonieen von den so gezüchteten Kulturen verwendet und diese ebenfalls durch Nadelstich verimpft. Durch solche Stichimpfungen konnten über 300 Gallen erzeugt werden. Bei günstigen Vorbedingungen (junges Gewebe) fängt die Anschwellung schon nach 4—5 Tagen an, sichtbar zu werden und ist in einem Monat gut entwickelt, wächst jedoch mehrere Monate lang weiter und kann 1—2 Zoll im Durchmesser erreichen.

Bei einigen unserer Versuchsreihen hatten 100 Proz. Impfungen Erfolg (sämtliche 40 Stiche bei der einen Versuchsreihe, sämtliche 62 Stiche bei einer anderen), während die Kontrollpflanzen von Geschwülsten frei blieben; auch die Kontrollstiche an derselben Pflanze blieben fast stets ohne Reaktion. Bei den soeben erwähnten Versuchsreihen wurden 110 Kontrollstiche an denselben Pflanzen gemacht; sie heilten alle normal und blieben frei von Gallen. Alte Gewebe sind nicht sehr empfänglich. Nur in jungen, fleischigen Organen wachsen die Tumoren schnell. Die Mikroorganismen befallen Wurzeln ebenso wie Triebe. An verwundeten Stellen junger Stecklinge rufen sie häufig abnormes Wachstum hervor. Die Eigenschaft, Hyperplasien zu veranlassen, beschränkt sich nicht auf das Gänseblümchen. Auch an Tabakstengeln, Tomaten- und Kartoffelpflanzen und Zuckerrüben haben sich in wenigen Wochen gut entwickelte kleine Tumoren erzeugen lassen. Besonders vom gartenwirtschaftlichen Gesichtspunkte aus interessant ist die Tatsache, daß sich durch Einimpfung dieses Mikroorganismus vermittelst Nadelstichen an den Wurzeln von Pfirsichbäumen Gallen erzeugen ließen, die jungen Entwickelungsstadien von Kronengallen täuschend ähnlich aussehen. Innerhalb 18 Tagen haben diese Gewüchse die Größe einer Erbse erreicht, während die Kontrollstellen unverändert bleiben. Es ist vielleicht verfrüht, wenn man die Ursache der so verbreiteten und schädlichen Kronengalle der Pfirsiche als durch diese Versuche entdeckt bezeichnen wollte, aber es scheint fast, als ob es der Fall wäre. Man kann indes bei Abfassung dieser Zeilen

mit Bestimmtheit nicht mehr sagen, als daß wir einen Mikroorganismus gefunden haben, der bei Verimpfung auf Pfirsiche mit großer Regelmäßigkeit Gallen erzeugt, die in ihren frühesten Entwickelungsstadien von Kronengallen nicht unterschieden werden können. Die ausgewachsenen Gänseblumengallen sehen den Pfirsichgallen auch verblüffend ähnlich. Zahlreiche Versuche, welche die Frage innerhalb der nächsten 3 Monate entscheiden müssen, sind im Gange. Bei der bestgelungenen Versuchsreihe an Pfirsichwurzeln, die mit einer 5 Tage alten Agarreinkultur infiziert wurden, waren an neun Bäumen 14 Nadelstichgruppen zu je 5 Stichen angelegt worden; 13 Geschwülste gingen an. Die 14. Stichgruppe war auf einem schwachen Baume, der nicht ausschlug, angelegt worden, und kann deshalb außer Rechnung bleiben. So wurden bei dieser Reihe 100 Proz. Infektionen erzielt. In die Wurzeln von neun jungen Bäumchen derselben Zucht wurden zur Kontrolle mit sterilen Nadeln 75 Stiche gemacht; aber es traten keine Gallen auf. Bei einer anderen Reihe von 9 zu gleicher Zeit, wie die vorerwähnten geimpften Pfirsichbäumen, die am 23. Tage untersucht wurden, ergaben 75 Proz. der Stiche Gallen (9 Tumoren an 7 Pflanzen). Hierbei wurden die Wurzeln mit Nadeln beimpft, die mit einer vielleicht schon zu alten Kultur (sechstägige Glycerinagarstrichkultur) infiziert waren; die Pflanzen wurden indes wieder eingesetzt und es ist möglich, daß sich auch bei den zwei anderen Pflanzen schließlich doch noch an den Wurzeln Gallen bilden. Die beimpften wie die nicht beimpften Pflanzen wurden unmittelbar nachdem ihnen die Nadelstiche beigebracht waren, in guter Gewächshauserde in 10-zöllige neue Töpfe verpflanzt, und den gleichen Bedingungen, was Licht, Wärme und Wasser betrifft, ausgesetzt.

Der Meinung, daß die Kronengalle des Pfirsichs auf einen Myxomyceten zurückzuführen ist, haben sich die Verff. nie anschließen können; die Versuche Professor Toumeys wenigstens über seine Verimpfung sind dafür nicht beweisend. Er sah in den Gallengeweben oftmals etwas, was er für das Protoplasma eines schleimigen Schimmels, vermischt mit dem Protoplasma der Wirtspflanze, hielt; an der angeschnittenen Oberfläche der Galle erhielt er in spärlicher Menge etwas, was seiner Meinung nach Fruchtkörper dieser Mikroorganismen waren. Er stellte jedoch nur zwei Versuchsreihen mit Verimpfungen der Sporen seines Dendrophagus globosus an, mit vier Bäumen bei den ersten Versuchen und sechs bei den zweiten; dabei bekam aus der ersten Versuchsreihe nur einer und bei der zweiten nur zwei die Krankheit. Weshalb bekamen nicht auch die sieben anderen Bäume die Krankheit, nachdem ihnen die Sporen in ihr verletztes Gewebe hineingebracht worden waren? Die Möglichkeit, daß die drei Infektionen nicht durch irgend eine andere, zufällig an seiner Nadelspitze haftende Infektionsursache hervorgerufen worden sind, hat er nicht genügend ausgeschlossen. Die Dendrophagus-Sporangien, die die Sporen für die Impfung lieferten, wuchsen nicht auf einem künstlichen Nährboden, sondern auf der angeschnittenen Oberfläche der Galle, also einer infektiösen Fläche. Wie, wenn nun einige wenige Bakterien von der Oberfläche der Galle mitaufgenommen worden sind und so die Sporangien äußerlich oder innerlich verunreinigt haben? Dann kann die Nadel zufällig statt eines, wie er annahm, zwei Mikroorganismen in die Wunde gebracht haben und die unbeabsichtigte der beiden Arten kann die Ursache der Krankheit gewesen sein. Diese Möglichkeit hat Professor Toumey bei keinem seiner Versuche ausgeschlossen.

Durch Versuche verschiedener Autoren: Thaxter, Halsted,

ist sicher bewiesen, daß durch zerstückelte Gallen, die man in der Nähe von Wurzeln gesunder Bäume in der Erde vergräbt, an letzteren Gallen erzeugt werden können. Die Krankheit ist somit übertragbar, doch ist die Ursache trotz der zahlreichen Untersuchungen verschiedener Gelehrter noch zweifelhaft.

Für den Mikroorganismus, der solche Geschwülste hervorruft, wird der Name Bacterium tumefaciens in Vorschlag gebracht; seine charakteristischen Eigenschaften sind kurz folgende: B. tumefaciens n. sp. ist ein Spaltpilz, der die jungen Gewebe von Chrysanthemum frutescens, Prunus persica u. s. w. zu schneller Vermehrung anregt, wobei ein Tumor oder eine Galle entsteht. Der Mikroorganismus ist beweglich, besonders in jungen Kulturen. Er ist aërob und bildet binnen 12 Tagen aus keiner der untersuchten Zucker- und Alkoholarten Gas (Dextrose, Saccharose, Laktose, Maltose, Mannit, Glycerin). Auf gewöhnlichem Nähragar, Kartoffeln und Peptonbouillon wächst er weiß. In Bouillonröhrchen wächst er am besten an der Oberfläche, wo er ein zähes, faseriges Häutchen bildet, das sich durch Schütteln leicht ablösen läßt. Er trübt die Bouillon nicht stark. Bei 25° C wachsen die oberflächlichen Kolonieen auf Agar klein, rund, glatt und ziemlich dicht. Auf Agarstrichkulturen neigt der Mikroorganismus mehr dazu, längs des Nadelstriches zu wachsen, als weiter fortzukriechen. Nach 3 Tagen fängt er auf Agar an klebrig zu werden. Er bläut allmählich Lackmusmilch und fällt das Kasein vermittelst eines Labfermentes aus, wenigstens nicht durch Bildung irgend einer Säure; schließlich wird Lackmus reduziert. Gewöhnliche Nährgelatine verflüssigt er nach 15 Tagen noch nicht und wächst im Thermostaten bei Körpertemperatur nicht auf Agar und Bouillon. Auf jungen Agarkulturen wächst er als ein kurzes, mittelgroßes Stäbchen mit abgerundeten Ecken, oft zu zweit mit deutlicher Einschnürung. Die einzelnen Glieder sind gewöhnlich 1 μ oder weniger im Durchmesser und 2—3mal so lang als breit. Die Geißeln, eine bis drei an Zahl, stehen polar. Er wächst in keinem Medium gelb oder grünfluoreszierend und bräunt auch den Agar nicht. Auf Agar ist er ziemlich kurzlebig. Auf Cohnscher Lösung wächst er nicht; Oliventriebe werden von ihm nicht infiziert. Er ist mehr in der Tiefe des Tumors anzutreffen, als daß er in seinen Geweben gleichmäßig verteilt wäre. Am besten ist er aus der Stelle des Stieles zu isolieren, wo der Tumor an das gesunde Gewebe anstößt. Metastasen scheinen entstehen zu können. Oft trifft man auf Platten, die man aus älteren Teilen der Galle gießt, auf gelbe nicht pathogene Mikroorganismen.

Anhang.

Seit Obiges geschrieben worden, ist ein halbes Jahr verflossen, inzwischen sind die Gallen auf Pfirsichen ganz wie im Felde ausgewachsen. Auch auf Raphanus und Brassica glückten unsere Inokulationen, desgleichen auf Chrysanthemum Leucanthemum. Wir haben auch schöne Gallen in großen Mengen auf Stengeln und Wurzeln des Hopfens (Humulus Lupulus) mit Reinkulturen dieses Organismus verursacht, sogar bis an 100 Proz., dagegen zeigten die Kontrollpflanzen keine Gallen. Auch auf den Feldern der nordwestlichen Vereinigten Staaten kommt auf Humulus eine schädliche Galle vor, welche oft bis faustgroß werden und von Hitchcock Plasmodiophora zugeschrieben worden sind (Science XXII. p. 121). Vielleicht sind hier die Schleimpilze auch nur problematisch.

Jetzt kennen wir sicher sechs Pflanzenfamilien, bei welchen dieser

Nachdruck verboten.

Einige mykologische Beobachtungen aus Südamerika und Spanien.

Von F. W. Neger, Tharandt.

1. Ueber Chytridiaceen aus dem gemäßigten Südamerika.

Aus Südamerika sind bisher verhältnismäßig wenige Chytridiaceen bekannt; die meisten sind identisch mit in Europa vorkommenden Arten; so Urophlyctis hemisphaerica (Speg.) Syd. auf Bowlesia tenera (Chile und Argentina) (= U. Kriegeriana Magnus, in Europa auf Carum Carvi und Pimpinella magna), Synchytrium Stellariae Fuck. auf Stellaria media (Argentina); auch die von Spegazzini als Uromyces hemisphaericus Speg. bestimmten Pilze auf Chenopodium murale, Beta vulgaris und Medicago denticulata sind wahrscheinlich identisch mit Urophlyctis pulposa Schroet., bezw. U. leproides und U. Alfalfae v. Lagerh.

Während meines Aufenthaltes in Chile (1893—97) fand ich zwei Chytridiaceen, welche sich gleichfalls als mit europäischen Arten identisch erwiesen; eine weitere Chytridiacee entdeckte ich auf Blättern einer von meinem Freund Dr. P. Dusén kürzlich in Patagonien gesammelten Pflanze.

Synchytrium Taraxaci De Bary et Woron. auf Achyrophorus apargioides (und andere Achyrophorus-Arten).

Der Pilz ist häufig bei Concepcion und verursacht auf Blättern und Blattstielen die charakteristischen roten Pusteln. Die Einzelsporangien in der mir vorliegenden, in Chile gesammelten Pflanze sind etwa größer als an europäischem Material (z. B. auf Taraxacum officinale).

Synchytrium aureum Schroet. auf Plantago virginica.

In der Nähe von Concepcion fand ich auf einer natürlichen Wiese, auf welcher Plantago virginica massenhaft stand, ein epidemisches Auftreten dieses Pilzes; die Erscheinung war so auffallend, daß das Grün der Wiese stellenweise von rotbraunen Flecken unterbrochen war.

Der Pilz, d. h. die Dauersporen, haben große Aehnlichkeit mit Synchytrium Succisae De Bary et Woronin. Indessen fehlen Sporangiensori dem auf Plantago wachsenden Pilze vollkommen.

Für Synchytrium aureum sind die Dauersporen allerdings etwas klein (ca. 120 μ im Durchmesser), doch schwankt die Größe der Dauerspore von Synch. aureum zwischen weiten Grenzen. Auf Plantago-Arten werden außer S. aureum noch zwei weitere Synchytrium-Arten angegeben: das wenig bekannte S. punctum Sorokin (dessen Dauersporen aber nur 7—20 μ im Durchmesser fassen sollen), sowie S. plantagineum Sacc. (welches nach Fischer in Rabenhorst, Kryptogamenflora. Bd. I. Abt. 4. 1892. p. 55 mit S. aureum zu vereinigen ist). Das Vorkommen des Synch. aureum auf Plantago virginica bei Concepcion ist insofern von Interesse, als dieser Pilz bisher in Südamerika noch nicht beobachtet worden ist. Wenigstens erwähnt Walter Rytz[1]) in seiner Studie: „Beiträge zur Kenntnis der Gattung Synchytrium“ nur Europa, Nordamerika und Java als Verbreitungsgebiet der Pilze.

---

1) Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 639.

Urophlyctis major Schroet. auf Rumex maritimus L. var. fueginus Phil.

Auf Blättern dieser Pflanze, welche mein Freund Dr. P. Dusén im Lagunatal in Patagonien sammelte (10. III. 1905), bebachtete ich kleine braune Pusteln, welche sich bei näherer Untersuchung als durch Urophlyctis major Schroet. verursacht herausstellten. Größe der Pusteln, der Dauersporen etc. stimmen vollkommen überein mit den von Schroeter gemachten Angaben.

Das Vorkommen dieses Pilzes in Patagonien ist sehr bemerkenswert, nachdem derselbe bisher nur in Deutschland gefunden wurde und auch hier keineswegs häufig ist.

2. Ueber zwei Erysipheen aus Patagonien.

Unter den von meinem Freund, Dr. P. Dusén, in Patagonien im Jahr 1905 gesammelten Gefäßpflanzen fand ich zwei, welche von Mehltau infiziert waren, nämlich Escallonia rubra Pers. und Myoschilos oblongum R. et P. Der auf letzterer Pflanze lebende Pilz ist nicht neu. Ich selbst hatte denselben schon im Jahre 1897 in der Cordillera de Villarica (am Ostabhang der Andenkette) gesammelt und als Microsphaera Myoschili Neger beschrieben. Salmon[1]) hat den Pilz später mit Microsphaera Alni (Wallr.) Salm. vereinigt, mit welchem Recht, möge dahingestellt bleiben. P. Dusén sammelte den Pilz am Lago argentino. Der andere Mehltau auf Escallonia rubra stellt aber unzweifelhaft eine neue Art von Sphaerotheca dar, welche ich wegen der höchst charakteristisch spiralig gewundenen Anhängsel als Sphaerotheca spiralis Neger bezeichnen möchte.

Die Konidien bildenden weißen Mycelflecken treten an Blättern und Zweigen auf; die Perithecien finden sich aber fast stets an den Achsenteilen, namentlich nahe der Ansatzstelle der Blätter. Die vollkommen weißen, spiralig gewundenen Anhängsel sind teils frei, teils niederliegend und mit dem Mycel mehr oder weniger verwoben; sie sind einfach, nicht geteilt und niemals starr abstehend (wie bei Podosphaera); vielfach sind die Anhängsel benachbarter Perithecien untereinander zu einem dichten Filz verflochten. Eine Ablösung der Perithecien vom Substrat scheint in der Regel nicht stattzufinden; auch hiernach wäre der Pilz in die Gattung Sphaerotheca zu stellen (und nicht zu Podosphaera). Die Perithecien haben einen Durchmesser von ca. 75 μ, sind kugelig, braunschwarz, enthalten je 1 Ascus von kugeliger Gestalt und ca. 60 μ Durchmesser, mit je 8 einzelligen, elliptischen, farblosen, ca. 17—20 μ langen Sporen.

Der Pilz wurde von Dr. P. Dusén am Lago argentino (Patagonien) „ad marginem Fageti" gesammelt.

3. Ueber einige Pilze aus Südspanien.

Erysiphe taurica Lév auf Cistus monspeliensis L.

Dieser in Südeuropa und im Orient sehr verbreitete und auf zahllosen Wirtpflanzen vorkommende Pilz ist bisher auf einer einzigen Cistacee, nämlich auf Helianthemum oelandicum, beobachtet worden. In Gaucin (Andalusien) fand ich den Pilz in großer Menge, aber nur in der Konidienform, auf der oben genannten Wirtpflanze. Trotzdem daß es nicht gelang, die Perithecien aufzufinden, kann doch kein Zweifel bestehen, daß es sich hier um Erysiphe taurica

---

1) Supplementary Notes on the Erysipheae. (Bull. Torrey Bot. Club. 1902. p. 105.)

handelt; abgesehen von der langgestreckten (an Phyllactinia erinnernden) Form der Konidien spricht dafür die Tatsache, daß das Mycel des Pilzes intercellular entwickelt ist, eine Eigentümlichkeit, welche, wie von Salmon[1]) nachgewiesen worden ist, außer Phyllactinia nur der Erysiphe taurica zukommt.

Microstroma quercinum Niessl. auf Korkeiche (Quercus tuber L.)

Dieser Pilz, dessen systematische Stellung noch nicht mit Sicherheit klargelegt ist[2]), kommt auf zahlreichen Quercus-Arten in vielen Ländern Europas vor, ist aber nach den mir vorliegenden Literaturangaben (Saccardo etc.) auf Quercus suber bisher noch nicht gefunden worden. Auch scheint er für Spanien neu zu sein. Ich beobachtete ihn in großer Menge bei Gaucin in Andalusien in einem Korkeichenwald auf überwinterten Blättern. Das Mycel des Pilzes läßt sich durch den ganzen Blattquerschnitt bis an die gegenüberliegende (obere) Epidermis verfolgen. Die Infektion erfolgt offenbar durch die Spaltöffnungen. Soweit das Mycel sich ausbreitet, fehlt die in den Blättern während des Winters aufgespeicherte Stärke. Die basidienartigen Konidienträger erheben sich aus einem dichten Mycelknäuel, welcher die Atemhöhle vollkommen erfüllt und verstopft.

Ueber Antennaria ericophila Link. auf Erica arborea L.

Dieser Pilz, in der Literatur schon für Lusitanien angegeben, ist eine überaus häufige Erscheinung in den Macchien Andalusiens. Ich fand sowohl die Perithecien als auch die charakteristischen antennenartigen Konidienträger, welche zu der Bezeichnung „Antennaria" Veranlassung gegeben haben. Bezüglich der Perithecien muß ich hinzufügen, daß dieselben nicht, wie Saccardo bei der Charakteristik der Gattung[3]) sagt: „non ascophora" sind, sondern vielmehr recht wohlausgebildete Asci besitzen; dieselben sind cylindrisch, 40—50 μ lang, 15—20 μ breit, in großer Anzahl büschelig vereinigt; die Ascosporen sind zweizellig, grünlich, 18—20 μ lang und 7 μ breit. Jeder Ascus enthält 8 Sporen, welche aber frühzeitig frei werden, so daß es verhältnismäßig selten gelingt, einen mit den 8 Sporen erfüllten Ascus zu beobachten.

Höchst merkwürdig ist nun die Abhängigkeit der Entwickelung dieses Pilzes von den klimatischen Verhältnissen, bezw. der Höhenlage seines Vorkommens. In einer Meereshöhe von ca. 200-400 m ü. M. treten an den dünnsten Zweigen der Erica arborea winzige schwarze Pilzrasen auf, welche sich besonders in den Blattachseln sowie an den Blattnarben abgefallener Nadeln ansiedeln. Diese wenig auffallenden, höchstens stecknadelkopfgroßen Pilzrasen tragen nun in der Regel Perithecien, welche sich der Blattachsel mehr oder weniger eng anschmiegen.

In je bedeutendere Meereshöhe man nun aufsteigt, um so üppiger ist das vegetative Mycel entwickelt; bei 600—700 m ü. M. sind schon häufig ganze Pflanzen an den Achsenteilen in einen schwarzen Mycelmantel eingehüllt. Stellenweise ist die Entwickelung des Pilzes so mächtig, daß hühnerei- oder faustgroße Beulen gebildet werden, welche aber stets nur locker befestigt sind und sich leicht ablösen lassen. Diese Pilzpolster speichern das Regenwasser wie ein Schwamm. Etwa über

1) Salmon, Preliminary note on a endophytes species of the Erysiphaceae (Annales mycologici. Vol. III. 1905. p. 82.)

2) Schroeter (Kryptogamenflora von Schlesien) Pilze I. p. 414) stellt ihn zu den Exobasidiaceen, während er von Lindan (in Rabenhorst, Kyptogamenflora Bd. I. Abt. VIII. 1904 p. 17 unter den Hyphomyceten aufgeführt wird.

3) Sylloge fungorum Bd. I 1882 p. 80

700 m zeigen diese Polster eine eigentümliche Oberfläche, gebildet aus zahllosen antennenartigen Konidienträgern, welche nach allen Richtungen des Raumes abstehen, 1—2 mm hoch sind und an der Spitze einen aus 4-zelligen dunklen Konidien gebildeten Knopf tragen. Die Säule der Konidienträger ist außen von dickwandigen perlschnurartigen Mycelfäden gebildet. Das Innere der Säule besteht aus fadenförmigen Hyphen, welche an der Spitze die bräunlichen, keulenförmigen, 40—45 μ langen Konidien abgliedern.

An diesen kugeligen Mycelpolstern — sterilen sowohl wie Konidientragenden — deren ich zahlreiche sammelte, fand ich nun niemals eine Spur der Perithecien. Dies hängt wohl mit der viel höheren Luft- und Niederschlagsfeuchtigkeit, sowie mit der viel kühleren Temperatur, welche in Höhen von über 500 m herrschen, zusammen. Offenbar fördern diese Faktoren die vegetative Entwickelung des Pilzes, beeinträchtigen aber die Schlauchfruchtbildung. Wir haben demnach hier die auffallende Erscheinung, daß ein und derselbe Pilz in verschiedener Meereshöhe und demnach unter verschiedenen natürlichen Wachstumsbedingungen eine sehr verschiedene Entwickelung erfährt: in den warmen Niederungen Perithecien bei sehr spärlicher Luftmycelbildung; auf den kühlen, niederschlagsreichen Höhen dagegen Konidienträger bei überaus üppiger vegetativer Ausbildung.

Noch möchte ich erwähnen, daß der Entzug von Licht und Luft, welchen der Pilz bewirkt — er wächst niemals parasitisch, sondern stets rein oberflächlich — so bedeutend ist, daß die Erica-Sträucher nicht selten kränkeln und schließlich absterben.

Eine einfache Methode zur Reinzüchtung von Bakterien unter mikroskopischer Kontrolle des Ausgangs von der einzelnen Zelle.

(Vorläufige Mitteilung.)

[Aus der Schweiz. milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt auf dem Liebefeld bei Bern.]

Von Prof. Dr. **R. Burri.**

Bei Gelegenheit von Untersuchungen über die Variabilität der physiologischen Eigenschaften gewisser Vertreter der Coli-Gruppe hat sich mir das Bedürfnis nach einer einfachen und zuverlässigen Bakterien-Einzellkultur so intensiv aufgedrängt, daß ich einstweilen von der Fortsetzung jener Untersuchungen Abstand nahm und meine Aufmerksamkeit dem fraglichen Problem zuwandte. Die betreffenden Bemühungen haben zu einer überraschend einfachen Lösung geführt, und ich möchte mir gestatten, in Anbetracht der hervorragenden Bedeutung des Gegenstandes, das später genauer zu beschreibende und rücksichtlich seiner Zuverlässigkeit näher zu begründende Verfahren, das ich als Tuschepunktkultur bezeichnen will, in dieser vorläufigen Mitteilung kurz bekannt zu geben.

Mit Wasser im Verhältnis 1:10 verdünnte käufliche flüssige Tusche[1]) wird zu 5 oder 10 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und im

1) Ich verwende Günther Wagners flüssige Perltusche.

Autoklaven sterilisiert. Die schwarze Flüssigkeit impft man mit dem Bakterienmaterial und bringt sie empirisch derart auf eine bestimmte Keimzahl, daß ein kleinstes Tröpfchen durchschnittlich einen Keim enthält. Solche Tröpfchen, die womöglich nur 0,1—0,2 mm Durchmesser haben sollten, werden mittels einer in der Flamme sterilisierten Zeichnungsfeder in regelmäßiger Anordnung, z. B. in Gruppen von drei mal drei, auf die Oberfläche einer frisch gegossenen und wieder erstarrten Schicht von Nährgelatine gebracht und nach dem in wenigen Sekunden erfolgten Eintrocknen mit abgeflammten Deckgläschen bedeckt. Die einzelnen Tuschepunkte können nun bei starker Vergrößerung auf die Anzahl der in ihnen eingeschlossenen Keime geprüft und bei zusagendem Ergebnis für die weitere Behandlung gekennzeichnet werden. Diese richtet sich nach dem Charakter der vorliegenden Bakterienart. Ist die letztere gelatinewüchsig und nicht obligat anaërob, so kann man das Deckglas einfach liegen lassen, bis der Keim sich zur Kolonie entwickelt hat und dann zur Abimpfung schreiten. Verlangt der zu isolierende Organismus eine höhere Temperatur, so entfernt man nach der mikroskopischen Untersuchung das Deckglas behutsam von der Gelatine und legt es auf eine etwas vorgetrocknete Agarschicht. Der im Tuschepunkt enthaltene einzelne Keim wird dabei mitübertragen, dank der Eigenschaft dieses Punktes, besser am trockenen Deckglas als an der feuchten Gelatine zu haften. Aus diesem Grunde ist es ferner möglich, den einzelnen Keim zum Ausgangspunkt einer flüssigen Kultur zu machen, indem man einfach auf den betreffenden Punkt des von der Gelatine abgehobenen Deckglases ein Tröpfchen Nährlösung bringt und das Deckglas mit dem Tröpfchen nach unten auf den Hohlschliff eines Objektträgers kittet. In geeigneter Abänderung eignet sich das beschriebene Verfahren auch für die Einzellkultur obligat anaërober Bakterien.

Bern, im September 1907.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 27. November 1907.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 4|5.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Photogramme von Crenothrix polyspora Cohn.

Von Dr. W. Rullmann in München.

Mit 2 Figuren und 1 Tafel.

Gelegentlich von Untersuchungen über Crenothrix polyspora Cohn, mit welchen ich seit einiger Zeit beschäftigt bin, wurden photographische Aufnahmen[1]) dieser Pflanze gemacht. Da meines Wissens

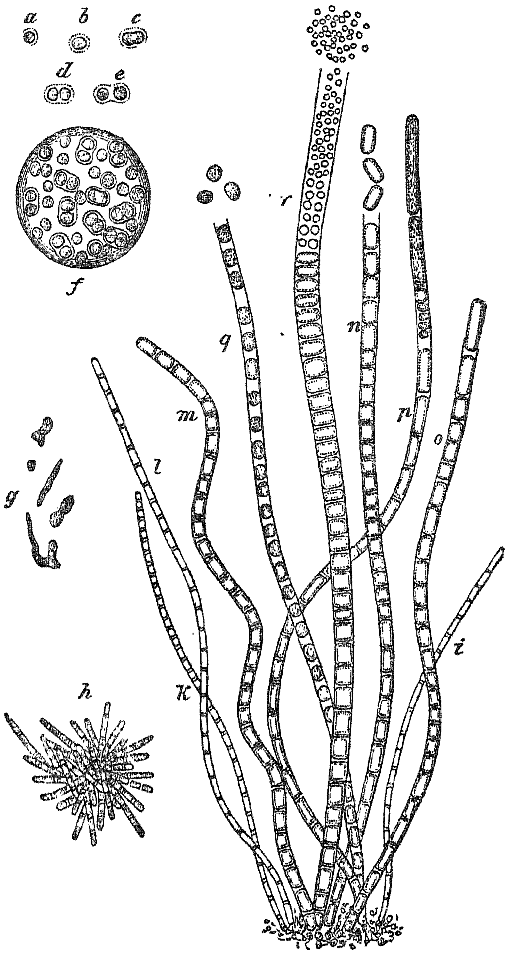


Fig. 1. Crenothrix polyspora. *i—r*, fädige Zellverbände von verschiedener Dicke, *n—q*, Makrokokken und *r* Mikrokokken abspaltend. — Vergr. ca. 600. *a—e*, Vermehrung der Kokken; *f*, Kokkenkolonie; *g*, solche in natürlicher Größe; *h* solche in der Auskeimung begriffen. Vergr. 600. — Nach Zopf.

1) Photograph W. Meyer-Lüben, München, Heßstraße 9.

bisher noch keine Photogramme von diesem Organismus veröffentlicht worden sind, will ich solche hier vorlegen.

Mein Ausgangsmaterial stammt aus dem Hochreservoir der Wasserleitung der Kreisstadt Landshut in Niederbayern, und erhielt ich solches von dem dortigen städtischen Chemiker, Herrn Dr. Willemer, auf meine Bitte in dankenswertester Weise zugesandt, nachdem Herr Professor Dr. Giesenhagen in München bereits festgestellt hatte, daß die im Hochreservoir seit längerer Zeit beobachteten Ablagerungen, deren Menge in der letzten Zeit im Zunehmen begriffen ist, aus Crenothrix-Wucherungen bestehen.

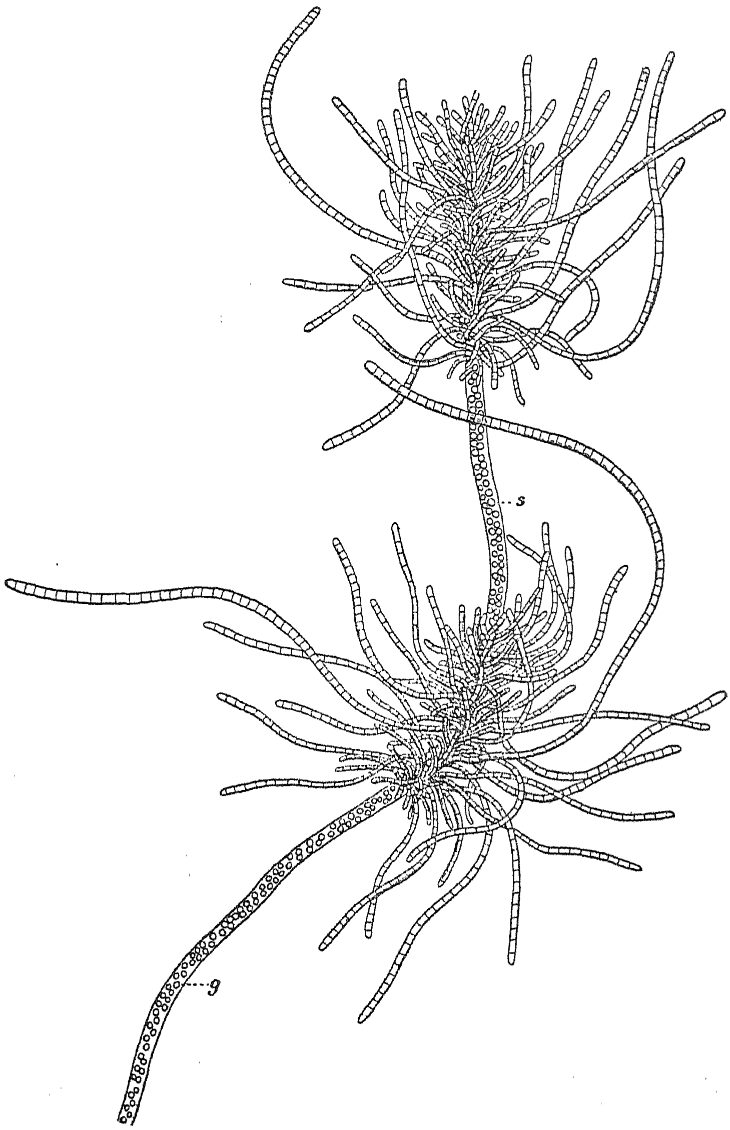


Fig. 2. Crenothrix polyspora. Auskeimung der Kokken *g* innerhalb der Scheide des alten Mutterzellfadens. Vergr. ca. 600. Nach Zopf.

Die Photographien sind Aufnahmen von mit Karbolfuchsin gefärbten Trockenpräparaten. Die Aufnahmen erfolgten mit Zeißscher Oelimmersion, Apertur 1,4, Brennweite 3 mm; bei Figur 1 und 2 kam das Projektionsokular IV und bei 3 und 4 das Kompensationsokular IV zur Verwendung.

Auf Figur 1 und 2 sieht man bei 560-facher linearer Vergrößerung junge Crenothrix-Fäden in den Stadien lebhafter Teilung mit allen Uebergängen von langen und kurzen, stäbchenförmigen Gebilden verschiedener Dicke bis zu den kugeligen Makro- und Mikrogonidien, in zum Teil zickzackförmiger Anordnung. Die zarte Scheide dieser jungen Fäden, welche am frischen Präparate eben noch erkennbar ist, ist im photographischen Bilde ausgeblieben.

Figur 3 zeigt bei 1260-facher linearer Vergrößerung Fäden mit Makrogonidienbildung und bereits ausgebildeten Makrogonidien. Die sehr deutlich sichtbaren Scheiden haben sich teilweise schon entleert.

Figur 4 zeigt bei 700-facher linearer Vergrößerung Büschel von jungen, dünnen, in Teilung begriffenen Fäden, die von Gonidien herstammen, welche offenbar innerhalb der Scheide des Mutterfadens ausgekeimt haben.

Die vorliegenden Aufnahmen stehen in erfreulicher Uebereinstimmung mit den beigefügten schematischen Zeichnungen der Crenothrix-Vegetationen von Zopf[1]) und dürften zur Bereicherung der morphologischen Kenntnisse über diesen Organismus beitragen.

Nach Abschluß meiner Untersuchungen werde ich über deren Resultate berichten.

München, 14. Juli 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber Abschwächung und Variabilität
bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf.

[Aus dem botanischen Institut der Universität Marburg (Direktor: Prof. Dr. Arthur Meyer).]

Von Ing. Chem. Dr. **Ludwik Garbowski.**

Mit 2 Tafeln und 4 Figuren.

(Schluß.)

Im folgenden ist eine vergleichende tabellarische Zusammenstellung der mittleren Größen (Medianen) den Sporen beider Species auf allen untersuchten Nährmedien angegeben:

	Mittlere Sporengröße (Länge) in μ auf										
	Agar neutral	1/3 Agar neutral	Agar schw. alkal.	Agar stark alkal.	Dextroseagar neutral	1/3 Dextrose-agar neutral	Ammonium-tartrat-Glyc.-Agar	Salpeter-Glycerin-Ag	$CuSO_4$-Agar	$K_2Cr_2O_7$-Agar	Phenol-Agar
B. luteus	1,87	1,71	{2,45 1,18}	1,25	1,20	—	1,21	0,98	1,58	1,41	1,12
B. tumescens	—	—	—	—	{2,21 1,52	2,17 [1,62]}	1,53	1,11	{1,68 1,38}	1,25	1,47

1) Zopf, W., Die Spaltpilze. Breslau (E. Trewendt) 1884 und in Lafar. I. Aufl. Jena (Fischer) 1897. p. 319—320.

Die ganze Variationsbreite der Sporengröße (Länge) der beiden Species hat sich identisch erwiesen, was folgende Vergleichung der kleinsten und größten erhaltenen Sporen beweist.

	Länge in μ	
	der kleinsten Spore	der größten (längsten) Spore
B. luteus	0,4 (auf Salpeter-Glycerin-Agar)	3,2 (auf schwach alkal. Fleischextrakt-Peptonagar)
B. tumescens	0,4 („ „ „ „)	3,2 (auf neutralem Dextroseagar)

4. Abschwächung durch eine kombinierte Wärme- und Giftwirkung.

Surmont und Arnould (1894) konnten in einem Fall Asporogenie bei Bac. anthracis durch eine kombinierte Wirkung der Kultur bei höherer Temperatur (42°) während einer bestimmten Zeit mit danach folgender Giftwirkung (Kultur in phenolhaltiger Bouillon) hervorbringen. Diesen Versuch habe ich auch mit Bac. luteus und Bac. tumescens gemacht, aber — wie ich schon im voraus angeben will — ohne Erfolg.

Die beiden Species wurden zuerst eine Woche bei 42—47° vorkultiviert und dann auf phenol- resp. bichromathaltigen Agar übergeimpft. Die Proben enthielten je 0,2—0,4 u. s. w. bis 1 ccm der 1,5-proz. Phenollösung resp. 0,15-proz. Kaliumbichromatlösung.

Bac. luteus entwickelte sich auf 1 Ph nicht, aber auf 0,8 Ph waren nach Verlauf von 3 Wochen Sporen, wenn auch in sehr kleiner Anzahl, entstanden.

Die Grenzkultur mit Kaliumbichromat, 0,6 $\frac{\text{Chr}}{10}$ enthielt auch Sporen.

Nicht anders verhielten sich die Grenzkulturen 0,2 PhD und 1 $\frac{\text{Chr}}{10}$D von Bac. tumescens.

Es hat somit bei den von mir untersuchten zwei Species weder die Wirkung der hohen Temperatur (42—45°), noch der chemischen Gifte, noch die kombinierte Wirkung dieser beiden Momente zur Asporogenie, ja nicht einmal zur vollkommenen Verhinderung der Sporenbildung, wie das auf den ammoniumtartrathaltigen Kulturen von Bac. luteus der Fall gewesen ist, geführt.

VII. Verhalten der normalen und abgeschwächten Stämme von Bac. luteus und von Bac. tumescens gegen verschiedene Sauerstoffkonzentration.

Die folgenden Versuche, welche das Verhalten der normalen und abgeschwächten Stämme von Bac. luteus und Bac. tumescens in einer Atmosphäre mit verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen schildern, wurden in den von Prof. Arth. Meyer beschriebenen Vakuum- (1905) und Druckapparaten (1906) ausgeführt. Sie wurden, wenn nichts Besonderes bemerkt, immer mit ausgereiftem, 3—4 Wochen altem Sporenmaterial angestellt. Die in den Tabellen gebrauchten Bezeichnungen bedeuten:

— Sporen nicht ausgekeimt.

. Sporen ausgekeimt, schwaches vegetatives Wachstum vorhanden, makroskopisch keine Entwickelung sichtbar.

+ Gute vegetative Entwickelung, noch keine Sporen gebildet.

× Neue Sporen gebildet.

0 Makroskopisch keine Entwickelung (mikroskopisch nicht untersucht).
1 Makroskopisch sichtbare Entwickelung (mikroskopisch nicht untersucht).

1. Versuche unter Druck.

Die folgenden zwei Versuche wurden mit normalen Sporen einer Agarkultur von Bac. luteus, resp. einer Dextroseagarkultur von Bac. tumescens ausgeführt. Die Sporen sind zum Teil direkt auf den verschiedenen Nährböden, normalen und $^1/_3$ Agar und Dextroseagar, alkalischen (p. 743 Bd. XIX) und mineralischen (p. 740 Bd. XIX), Agar, Möhre, Kartoffel und in die angegebenen flüssigen Nährmedien ausgesät, zum Teil nach vorangegangener Erhitzung während 1 Minute auf 100°.

A. Versuch in komprimierter Luft. Druck 20 kg/qcm, entspricht ca. 5600 mg Sauerstoff im Liter (bei 20°). Angesetzt am 23. Januar bei 28°.

a) Bac. luteus.

Untersucht am	Sporen nicht erhitzt Aussaat auf			Sporen 1 Minute auf 100° erhitzt Aussaat auf		
	Alkal. Ag I 0,5	Alkal. DAg I 0,5	Kartoffel	Alkal. Ag I 0,5	Alkal. DAg I 0,5	Kartoffel
29. Jan.	.	.	.	—	—	—
4. Febr.	.	.	.	—	—	—
4. „ 4 Uhr	Aus dem Druckraum herausgenommen und zur weiteren Kultur unter gew. Druck in den Thermostaten (28°) eingestellt.					
5. „ 2 „	+	+	+	.	.	—
8. „	×	×	×	×	×	—

b) Bac. tumescens.

Untersucht am	Sporen nicht erhitzt Aussaat auf			Sporen 1 Minute auf 100° erhitzt Aussaat auf		
	DAg	Alkal. DAg I 0,5	Möhre	DAg	Alkal. DAg I 0,5	Möhre
29. Jan.	—	—	—	—	—	—
4. Febr.	.	.	.	—	—	—
4. „ 4 Uhr	Zur weiteren Kultur unter gew. Druck in den Thermostaten (28°) eingestellt.					
„	×	×	.	×	×	—

Aus dem Versuch geht hervor:

1) daß die Wirkung einer größeren Sauerstoffkonzentration sich je nach dem Nährboden verschieden äußert, und

2) daß die erhitzten Sporen im allgemeinen empfindlicher gegen erhöhten Sauerstoffdruck, als unerhitzte sind.

Dieses Ergebnis wird auch durch den folgenden Versuch bestätigt.

B. Versuch im Sauerstoffgas. Druck 8 kg/qcm entspricht ca. 11 000 mg Sauerstoff in 1 Liter (bei 20°). Im Gas 96,7 Proz. O; 1,2 Proz. CO_2 und 21 Proz. nicht absorbierte Gase (N).

Angesetzt am 25. Februar bei 28°.

(Siehe Tabelle p. 102.)

Alle folgende im Druckraum angestellten Versuche sind in Sauerstoffatmosphäre ausgeführt.

C. Versuch auf normalem Agar resp. Dextroseagar. Die Sporen

a) Bac. luteus.

Untersucht am	Sporen nicht erhitzt Aussaat auf			Sporen 1 Minute erhitzt Aussaat auf		
	$^1/_3$ DAg	Salpeter-Glyc.-Ag.	Salpeter-Glyc.-Nährlös.	$^1/_3$ DAg	Salpeter-Glyc.-Ag.	Salpeter-Glyc.-Nährlös.
7. März	.	.	—	—	—	—
21. „	.	.	—	—	—	—
21. „ 4 Uhr	In der Luft unter gew. Druck bei 28° weiter kultiviert					
22. „ 10 Uhr (nach 20 Std.)	×	×	—	—	—	—

b) Bac. tumescens.

Untersucht am	Sporen nicht erhitzt Aussaat auf			Sporen 1 Minute erhitzt Aussaat auf		
	$^1/_3$ DAg	Ammon.-tartrat-Glyc.-Ag	Amm.tart.-Glyc.-Nährlösung	$^1/_3$ DAg	Ammon.-tartrat-Glyc.-Ag.	Amm.tart.-Glyc.-Nährlösung
7. März	.	—	—	—	—	—
21. „	.	.	—	—	—	—
21. „ 4 Uhr	In der Luft unter gew. Druck bei 28° weiter kultiviert					
22. „ 10 Uhr (nach 20 Std.)	1	1	—	—	—	—

der auf chemischem Wege abgeschwächten Stämme (p. 38—44): 0,3 Ph I, 1 Chr I und 0,5 $\frac{Ku}{10}$ I und einer 3 Wochen alten, auf $^1/_3$ Agar bei 42—47° (45°) gezüchteten Kultur nebst den normalen Sporen von Bac. luteus und Sporen der auf gleiche Weise abgeschwächten Stämme 0,3 PhD I, 0,2 ChrD I und 0,3 $\frac{Ku}{10}$D I, einer bei 45° auf $^1/_3$ DAg vorgezüchteten Kultur und normale Sporen von Bac. tumescens wurden vor der Aussaat je $^1/_2$ Minute auf 100° erhitzt.

Druck 3 kg/qcm entspricht ca. 5000 mg Sauerstoff im Liter (20°). Angesetzt am 7. Juni in Zimmertemperatur (16—22°).

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von				
	0,1 Chr I	0,5 $\frac{Ku}{10}$ I	0,3 Ph I	$^1/_3$ Ag 45°	$^1/_3$ Ag 28°
20. Juni	—	—	—	—	.
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
21. Juni	.	.	.	—	1
24. „	1	1	1	—	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von				
	0,1 ChrD I	0,3 $\frac{Ku}{10}$D I	0,3 PhD I	$^1/_3$ DAg 45°	$^1/_3$ DAg 28°
20. Juni	.	.	.	—	1
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
21. Juni	.	1	1	—	1
24. „	1	1	1	—	1

Aus diesem Versuche folgt:

1) Die Auskeimung der auf chemischem Wege oder durch Wärmewirkung geschwächten Sporen von Bac. luteus wird durch eine Sauerstoffkonzentration (ca. 5000 mg im Liter) verhindert, welche die Auskeimung der normalen Sporen bei denselben Temperaturverhältnissen nicht beeinträchtigt.

2) Die auf eine gleiche Weise geschwächten Stämme von Bac. tumescens sind gegen entsprechende Sauerstoffkonzentration weniger empfindlich; die Sporen keimen aus, die vegetative Entwickelung wird jedoch gehemmt, während sie bei einem normalen Tumescens-Stamm deutlich zu Tage tritt[1]).

3) Sporen solcher Kulturen von Bac. luteus und Bac. tumescens, welche längere Zeit (3 Wochen) bei 45° gehalten waren, kommen in der Sauerstoffkonzentration 5000 mg pro Liter nicht mehr zur Entwickelung. Es ist aber eine Frage, ob sie nicht schon früher durch die längere Erhitzung auf 45° und durch die hinzukommende Erhitzung während $^1/_2$ Minute auf 100° getötet worden waren.

Alle diese Resultate sind durch die vorangegangene Erhitzung der Sporen in kleinerem oder größerem Maße beeinflußt.

In den folgenden Versuchen im Druckapparat ist als Nährboden $^1/_3$ Agar — für Bac. luteus resp. $^1/_3$ Dextroseagar — für Bac. tumescens angewandt. Das Aussaatmaterial wurde nicht mehr erhitzt. Außer der ersten geschwächten Kulturreihe (I) vom 15. Mai, deren Sporen inzwischen älter und zahlreicher geworden waren, kam noch die zweite (II) vom 29. Mai, welche auch schon Sporen enthielt, zur Anwendung. Das Material der Kulturen von 45° war nur 24 Stunden alt.

D. Versuch. Druck 5 kg/qcm entspricht ca. 7600 mg Sauerstoff pro Liter (20°). Angesetzt am 21. Juni in Zimmertemperatur (16—22°).

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von								
	0,1 Chr I	0,1 Chr II	0,5 $\frac{Ku}{10}$ I	0,6 $\frac{Ku}{10}$ II	0,3 Ph I	0,6 Ph II	$^1/_3$ Ag 45°	$^1/_3$ Ag 28°	$^1/_3$ Ag 28° Sp. $^1/_2$′ erh.
1. Juli	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:								
2. Juli	1	0	1	1	1	0	0	1	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von								
	0,1 ChrD I	0,1 ChrD II	0,3 $\frac{Ku}{10}$ D I	0,6 $\frac{Ku}{10}$ D II	0,3 PhD I	0,6 PhD II	$^1/_3$ DAg 45°	$^1/_3$ DAg 28°	$^1/_3$ DAg 28°, Sp. $^1/_2$′ erhitzt
1. Juli	1	0	1	1	0	0	0	1	1
	In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:								
2. Juli	1	1	1	1	1	0	1	1	1

Aus diesen Versuchen folgt, daß die durch Kaliumbichromat und Phenol geschwächten, 3 Wochen alten Kulturen II empfindlicher gegen hohe Sauerstoffkonzentration sind als die 5—6 Wochen alten Kulturen I.

1) Das Wachstum unter Druck erfolgt bei beiden Species nicht, wie gewöhnlich, auf der freien Oberfläche des Nährbodens, wo der Kontakt mit dem umgebenden Gas am intensivsten ist, sondern innerlich zwischen der Nährbodenschicht und der Glaswand des Röhrchens.

Zwei Momente kommen hierbei in Betracht: erstens die weiter geführte Schwächung der zweiten auf dem giftigen Substrate ausgewachsenen Generation und zweitens eine durch lange andauerndes vegetatives Wachstum und langsame Fruktifikation verursachte Erholung des Organismus von der giftigen Wirkung des Mediums. Diese mit der Zeit eintretende Erholung des Organismus auf dem mit Gift versetzten Nährboden hängt wahrscheinlich mit den chemischen Veränderungen des Nährbodens selbst zusammen: Phenol verdampft mit der Zeit und Kaliumbichromat wird durch die Ausscheidungsprodukte der Bakterienvegetation zum Teil reduziert, was schon am Verschwinden der gelben Farbe der Agarschicht zu erkennen ist. In der Tat beobachtet man zum Teil in den älteren (nach 4—5 Wochen) phenol- und kaliumbichromathaltigen Kulturen das Auftreten normal gestalteter vegetativer Formen und hier und da Sporangien.

E. Versuch. Druck 20 kg/qcm entspricht ca. 26000 mg Sauerstoff im Liter (20°). Angesetzt am 2. Juni bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von						
	0,1 Chr I	0,1 Chr II	$0{,}5\frac{Ku}{10}$ I	$0{,}6\frac{Ku}{10}$ II	0,3 Ph I	0,6 Ph II	$^1/_8$ Ag 28°
17. Juli	0	0	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:							
19. Juli	1	0	1	1	1	0	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von						
	0,1 ChrD I	0,1 ChrD II	$0{,}3\frac{Ku}{10}$D I	$0{,}6\frac{Ku}{10}$D II	0,3 PhD I	0,6 PhD II	$^1/_8$ DAg 28°
17. Juli	0	0	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:							
19. Juli	1	1	1	1	1	0	1

Der Versuch bestätigt in vollem Umfange das Resultat des vorigen.

2. Versuche im Vakuum.

Alle Versuche im Vakuum sind auf $^1/_3$ Agar (Bac. luteus) resp. $^1/_3$ Dextroseagar (Bac. tumescens) ausgeführt. Das Material der Kulturen von 45° wurde vor der Aussaat 48 Stunden bis 10 Tage im Wärmeschrank (Temperaturschwankung 42—47°) gehalten.

A. Versuch. Druck 17,7 mm (bei 20°) entspricht 0,1 mg Sauerstoffkonzentration im Liter. Angesetzt am 22. Juni bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von				
	0,1 Chr I	$0{,}5\frac{Ku}{10}$ I	0,3 Ph I	$^1/_3$ Ag 45°	$^1/_8$ Ag 28°
18. Juli	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
19. Juli	1	1	1	1	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von				
	0,1 ChrD I	0,3 $\frac{Ku}{10}$D I	0,3 PhD I	$^1/_3$ DAg 45°	$^1/_3$ DAg 28°
18. Juli	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
19. Juli	1	1	1	0	1

B. Versuch. Druck 20,1 mm (bei 20°) entspricht 1,0 mg Sauerstoffkonzentration im Liter.

Das Material der phenolhaltigen Kulturen wurde zum Teil direkt, zum Teil nach vorangegangener Erhitzung während $^1/_2$ Minute auf 100° ausgesät. Angesetzt am 14. Juni bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von				
	0,5 $\frac{Ku}{10}$ I	0,3 Ph I	0,3 Ph I $^1/_2$′	$^1/_3$ Ag 45°	$^1/_3$ Ag 28°
29. Juni	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
1. Juli	1	1	Einzelne Kolonieen	1	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von				
	0,3 $\frac{Ku}{10}$D I	0,3 PhD I	0,3 PhD I $^1/_2$′	$^1/_3$ DAg 45°	$^1/_3$ DAg 28°
29. Juni	0	0	0	0	0
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
1. Juli	1	1	1	1	1

C. Versuch. Druck 31,6 mm (bei 20°) entspricht 5 mg Sauerstoffkonzentration im Liter.

Das Material der bei 45° vorgezüchteten Kulturen ist zum Teil direkt, zum Teil nach vorangegangener Erhitzung ($^1/_2$ Minute auf 100°) ausgesät. Angesetzt am 14. Juni bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von				
	0,5 $\frac{Ku}{10}$ I	0,3 Ph I	$^1/_3$ Ag 45°	$^1/_3$ Ag 45° $^1/_2$′	$^1/_3$ Ag 28°
29. Juni	0	0	0	0	1
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
1. Juli	1	1	1	0	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von $0,3 \frac{Ku}{10}$ D I	0,3 PhD I	$^1/_3$ DAg 45°	$^1/_8$ DAg 45° $^1/_2$	$^1/_8$ DAg 28°
29. Juni	0	0	0	0	1
In der Luft unter gewöhnlichem Druck bei 28° weiter kultiviert:					
1. Juli	1	1	1	0	1

Aus dem letzten Versuch folgt, daß die durch Wirkung von Phenol, Kaliumbichromat und Kupfersulfat, wie auch durch Kultur bei 45° abgeschwächten Luteus- und Tumescens-Stämme sämtlich gegen Herabsetzung der Sauerstoffkonzentration empfindlicher als die normalen sind.

Der Kulturversuch A b zeigt außerdem, daß der durch Wärmewirkung abgeschwächte Bac. tumescens in dieser Beziehung am empfindlichsten ist; durch 3 Wochen langes Verbleiben in der 0,1 mg Sauerstoff im Liter enthaltenden Atmosphäre wird er entwickelungsunfähig gemacht.

D. Versuch. Druck 45,3 mm (20°) entspricht 10 mg Sauerstoffkonzentration im Liter.

Das Kulturmaterial für diesen und den folgenden Versuch ist dasselbe wie bei den Versuchen unter Druck (p. 102). Angesetzt am 2. Juli bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von 0,1 Chr II	$0,6 \frac{Ku}{10}$ II	0,3 Ph I	0,6 Ph II	$^1/_3$ Ag 45°
18. Juli	1	1	1	0	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von 0,1 ChrD II	$0,6 \frac{Ku}{10}$ II	0,3 PhD I	0,6 PhD II	$^1/_3$ DAg 45°
18. Juli	1	1	1	Einzelne Kolonieen	1

E. Versuch. Druck 72,6 mm (20°) entspricht 20 mg Sauerstoffkonzentration im Liter. Angesetzt am 2. Juli bei 20—34°.

a) Bac. luteus.

Untersucht	Sporen von 0,1 Chr II	$0,6 \frac{Ku}{10}$ II	0,3 Ph I	0,6 Ph II	$^1/_3$ Ag 45°
18. Juli	1	1	1	0	1

b) Bac. tumescens.

Untersucht	Sporen von 0,1 ChrD II	$0,6 \frac{Ku}{10}$ D II	0,3 PhD I	0,6 PhD II	$^1/_0$ DAg 45°
18. Juli	1	1	1	Einzelne Kolonieen	1

Diese beiden letzten Versuche beweisen, daß die Schwächung, welche durch Phenol herbeigeführt wird, in Bezug auf das Verhalten des Organismus gegen verdünnte Luft stärker ist als die durch Kaliumbichromat oder Kupfersulfat erzielte. Außerdem bestätigen sie zum Teil — nämlich in Bezug auf das Verhalten der durch Phenol abgeschwächten Stämme — das Ergebnis der Druckversuche, daß die älteren Kulturen (I) weniger empfindlich gegen die abnormen Kulturbedingungen als die jüngeren (II) sind.

Die Hauptergebnisse aller angeführten Kulturversuche unter Druck und im Vakuum lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1) Das Minimum und Maximum der Sauerstoffkonzentration für das Wachstum von Bac. luteus, wie auch von Bac. tumescens, von normalen, nicht abgekochten Sporen ausgehend, liegt bei der Kultur auf gewöhnlichem resp. auf Dextroseagar (bei 20°):

Minimum	Maximum
zw. 1 u. 5 mg	zw. 7600 u. 11000 mg

2) Durch die abschwächende Wirkung der Gifte (Phenol, Kaliumbichromat und Kupfersulfat) und der höheren Temperatur (42—47°) ist:

a) das Minimum für beide Species auf 5—10 mgr gestiegen (für die Phenolkulturen II zum Teil über 20 mgr);

b) das Maximum für alle abgeschwächten Luteus-Stämme, so wie auch für die durch Phenol (I und II), längere Kaliumbichromat-(II) und Wärmewirkung abgeschwächten Stämme von Bac. tumescens unter 7600 mgr gefallen.

VIII. Allgemeine Resultate.

Die Gesamtresultate der auf chemischem resp. auf physikalischem Wege bei Bac. luteus und Bac. tumescens vorgenommenen Abschwächungsversuche sind — kurz zusammengefaßt — folgende:

1) Die Sporenbildung wird verzögert;

2) die Zahl der fruktifizierenden Individuen wird vermindert;

3) die Größe der Sporen wird verkleinert;

4) die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen wird herabgesetzt (ihre Tötungszeit fällt);

5) die Teilung der vegetativen Morphoden wird entweder beeinträchtigt (Wirkung von Phenol und Kaliumbichromat) oder beschleunigt (Wirkung von Kupfersulfat);

6) die Säureproduktion läßt nach;

7) die Kardinalpunkte für die Sauerstoffkonzentration werden einander genähert: das Minimum steigt, das Maximum fällt.

Im allgemeinen hat sich ergeben, daß die verschiedenen benutzten Agentien alle — im wesentlichen — eine gleiche Reaktion der untersuchten Bakterienspecies hervorrufen. Daraus dürfen wir schließen, daß alle diese Mittel die Organisation der Zelle in gleicher Weise dauernd verändern. Es zeigt sich diese gleichmäßige Beeinflussung anscheinend 1) bei den Stoffwechselvorgängen (Säurebildung), sie tritt aber besonders deutlich hervor 2) beim Verhalten der durch Erhitzen geschwächten Bakterien gegen weitere Wärmewirkung und der durch chemische Gifte geschädigten gegen zu hohe und zu niedrige Sauerstoffpression. Besonders

hervorzuheben ist 3) der gleichsinnige Einfluß auf die morphologische Ausbildung, die Entwickelungszeit und die relative Anzahl der entwickelten Sporen.

Vorzüglich aus den beiden letzten Kategorien (2 und 3) von Erscheinungen läßt sich der Schluß ableiten, daß alle durch die angewandten Reagentien verursachten Veränderungen im Verhalten der Bakterien auf einer Schwächung der Konstitution, oder — wenn wir wollen — auf einer Verschlechterung der Konstruktion des Protoplasten der Zelle beruhen und daß es wesentlich gleichgültig ist, welche schädigenden Einflüsse zu dieser biologischen Verschlechterung führen.

Ganz gleichartig scheinen allerdings diese Agentien den Bau des Protoplasten nicht zu verändern. So z. B. fiel die Sporengröße von Bac. luteus mehr auf phenolhaltigem Agar, als auf bichromathaltigem, während bei Bac. tumescens Kaliumbichromat in dieser Beziehung sich wirksamer erwies als Phenol.

Eine besondere Erwähnung verdient noch die spezifische Wirkung von Kupfersulfat auf die gleichartige Ausbildung der vegetativen Formen beider Species.

Anhang.

Versuche über die chemische Zusammensetzung der Membran bei den Bakterien und deren Sporen.

Die Ansichten über die chemische Zusammensetzung der Membran bei den Bakterien gehen bis jetzt noch vollständig auseinander.

Nishimura (1894) hält auf Grund makrochemischer Untersuchungen „für möglich, daß die im Organismus wachsenden Tuberkelbacillen Cellulose bilden, während sie es in künstlicher Nährlösung (Glycerin-Bouillon) nicht tun", nach Ruppel (1898) dagegen „scheint ein großer Teil der Eiweißkörper der Tuberkelbacillen aus Substanzen zu bestehen, welche der Klasse des Keratins oder Chitins nahe stehen". Eine ähnliche Meinung spricht Helbing (1900) aus, indem er aus der gleichen Färbbarkeit von Tänieneiern und Tuberkelbacillen auf einen Chitingehalt der letzteren schließt.

Wie in den auf künstlichem Nährboden gezüchteten Tuberkelbacillen so fand Nishimura auch in Bac. prodigiosus und Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes „reichliche Mengen eines Kohlehydrats oder mehrerer Kohlehydrate, welche wahrscheinlich zu der von E. Schulze aufgestellten Gruppe den Hemicellulosen gehören". Brown (1896) und neuerdings Henneberg (1906) berichten über die Cellulosereaktion der Schleimmassen von Bacterium xylinum. Beijerinck (1898) zeigt die Anwesenheit von einem „celluloseartigen Körper bei mehreren Varietäten von Bac. rancens" an. In gleicher Weise hat E. Chr. Hansen die Cellulosereaktion der Schleimmembranen von Bact. pasteurianum und Bact. kützingianum festgestellt. Prof. Art. Meyer (1901) wies nach, daß es in der Tat die Zellmembranen sind, die die Cellulosereaktion geben. „Daß die Zellmembran von Bact. xylinum nicht aus reiner Cellulose besteht, sondern auch einen chitinartigen Körper enthält", schließt Emmerling (1899) aus seinen makrochemischen Untersuchungen. Er hat nämlich aus den entsprechend präparierten Membranen von Bact. xylinum Glykosamin — ein Zersetzungsprodukt von Chitin — dargestellt.

Iwanoff (1902) schließt aus seinen Untersuchungen an Bac. me-

gatherium, Bac. anthracis und Staphylococcus pyogenes aureus, „daß die Substanz der Zellmembranen dem tierischen Chitin sehr ähnlich, möglicherweise damit identisch ist“. Den „scheinbaren Widerspruch“ zwischen seinen Ergebnissen und denjenigen von van Wisselingh, der kein Chitin nachweisen konnte, will Iwanoff dadurch erklären, „daß man die zu erhaltende schwache Jodfärbung unter dem Mikroskop bei der minimalen Objektgröße und der künstlichen Beleuchtung, die für starke Vergrößerungen unumgänglich nötig ist, nur schwer beobachten kann“.

Die Methode des mikrochemischen Chitinnachweises hat van Wisselingh (1898) ausgearbeitet und mit Hilfe dieser Methode Chitin fast allgemein bei den Zygo-, Asco- und Discomyceten nachgewiesen, während er die Membranen der Peronosporeen, Saprolegnien, Saccharomyceten und Bakterien frei von Chitin fand. „Was die Bakterien anbetrifft — sagt van Wisselingh —, so bemerke ich, daß dieselben nach Erwärmen in konz. Kalilauge bis auf 160° C nicht mehr wiederzufinden waren und auch nicht mehr nach Erwärmen auf 300° C in Glycerin, indem ich bei den Resten, welche ihre Kulturen im ersten Falle zurückgelassen hatten, keine Mycosinreaktion hervorrufen konnte. Daher glaube ich nicht, daß in den Wänden Chitin vorkommt.“

Die Methode von van Wisselingh bei den Bakterien noch einmal zu prüfen war meine erste Aufgabe bei der Untersuchung über die chemische Zusammensetzung der Bakterienmembran. Als Versuchsobjekte benutzte ich Bac. luteus, Bac. tumescens und Bac. asterosporus.

Es wurden vegetative Formen und Sporen der genannten Arten zu Versuchen angewandt. Nach dem Vorgange von van Wisselingh wurde das Material mit einer ungefähr 10-fachen Menge konz. Kalilauge (1 KOH : 1 H_2O) in kleinen zugeschmolzenen Röhrchen im Autoklaven bis auf 160° erhitzt und die erhitzte Masse nach einigen Vorprüfungen auf folgende Weise behandelt: mit der Platinöse wurde ein Klümpchen der Masse auf den Objektträger gebracht, die Kalilauge nach und nach durch 75 Proz., 50 Proz. und 25 Proz. Glycerin entfernt und mit Jodjodkaliumlösung (2 Jod, 1 JK, 200 H_2O) und verdünnter Schwefelsäure (1 Proz. oder 5 Proz. H_2SO_4) versetzt. Als Kontrollprobe diente ein Röhrchen mit Hyphen von Penicillium oder Aspergillus.

Während nun bei den letzten die rotviolette Färbung unfehlbar schon makroskopisch schön hervortrat, war bei den Bakterien nichts derartiges zu sehen. Die vegetativen Formen gehen beim Erhitzen mit Kalilauge auf 160° und selbst auf 150° sicher zu Grunde und sind vor wie nach dem Färben „nicht mehr wiederzufinden“. Anders die Sporen. Werden zu den Versuchen ältere (3—4 Wochen alte), etwas angetrocknete Kulturen angewandt, so widerstehen die Sporenflöckchen der zerstörenden Kalilauge ganz gut und selbst eine schwache Färbung ihrer Membranen durch Wirkung der genannten Agentien würde nicht zu übersehen sein. Diese tritt aber nicht ein. Im Gegenteil — die Sporen, besonders von Bac. asterosporus, werden durch die Kalilauge selbst rötlich gefärbt und diese Farbe wird durch Jod- wie auch durch Schwefelsäurewirkung zum Verschwinden gebracht. Die rosenrote Färbung des Sporenmaterials von Bac. asterosporus durch konz. Kalilauge tritt schon in der Kälte ein. Die Erhaltung der Farbe trotz der Erhitzung auf 160° beweist, daß es sich um einen hitzebeständigen Membranstoff handelt.

Schwach rötlichen Anlauf bekommen durch KOH-Wirkung auch die

Sporen von Bac. luteus und sie verhalten sich gegen J+JK und H_2SO_4 ebenso, wie Asterosporus-Sporen.

Die Sporen von Bac. tumescens bleiben nach wie vor ungefärbt.

Inwieweit dieser negative Ausfall der Versuche über „Chitinreaktion" der Sporenmembranen der genannten Bakterienspecies gegen die Anwesenheit eines chitinartigen Körpers in denselben spricht, läßt sich nicht entscheiden, denn „das Chitin" wird bekanntlich neuerdings als ein Sammelbegriff angesehen.

In den vegetativen Formen von Bac. luteus und Bac. tumescens läßt sich durch direkte Wirkung von Jodjodkalium keine Membranfärbung hervorbringen, wohl aber, wenn man zuerst Eau de Javelle kurz wirken läßt, mit Wasser abspült und dann die Jodfärbung vornimmt. Die Wände beider genannten Bakterienarten erscheinen dann deutlich, wenn auch schwach rötlich- oder bläulichviolett gefärbt. An den Sporen ist wegen ihres starken Lichtbrechungsvermögens diese Färbung nicht zu sehen.

Literaturverzeichnis.

I. Allgemeine Werke.

Czapek, Biochemie der Pflanzen. 1905.
Davenport, Statistical methods with special reference to biological variation. New York 1899.
Fischer, Alfr., Vorlesungen über Bakterien. 1903.
Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie. 6. Aufl. 1906.
Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 1903.
Meyer, Arth., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903.
Nicolle, M., Grundzüge der allgemeinen Mikrobiologie. 1901.
Vries, H. de, Die Mutationstheorie. 1901.
—, Arten und Varietäten und ihre Entstehung durch Mutation. 1906.

II. Spezielle Abhandlungen.

1. Untersuchungsmethoden.

Blau, O., Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und Sporenbildung etc. [In.-Diss.] Marburg 1905.
Gottheil, A., Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. [In.-Diss.] Marburg 1901.
Ludwig, F., Ueber Variationskurven und Variationsflächen der Pflanzen. (Botan. Centralbl. Bd. LXIV. 1896.)
—, Weiteres über Fibonaccikurven. (Botan. Centralbl. Bd. LXVIII. 1896.)
—, Eine fünfgipfelige Variationskurve. (Ber. D. botan. Ges. Bd. XIV. 1896).
Meyer, Art., Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905.)
—, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hoher Sauerstoffkonzentration. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1906).
—, Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an Astasia asterospora etc. (Flora. 1897.)
—, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. 1899).
—, Notiz über das Verhalten der Sporen und Fetttropfen der Bakterien gegen Eau de Javelle und gegen Chloralhydratlösung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.)
Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildender Bakterien. [In.-Diss.] Marburg 1904.
Verschaffelt, E., Ueber graduelle Variabilität von pflanzlichen Eigenschaften. (Ber. D. botan. Ges. Bd. XII. 1894.)
Wund, M., Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration etc. [In.-Diss.] Marburg 1906.

2. Allgemeiner Entwickelungsgang.

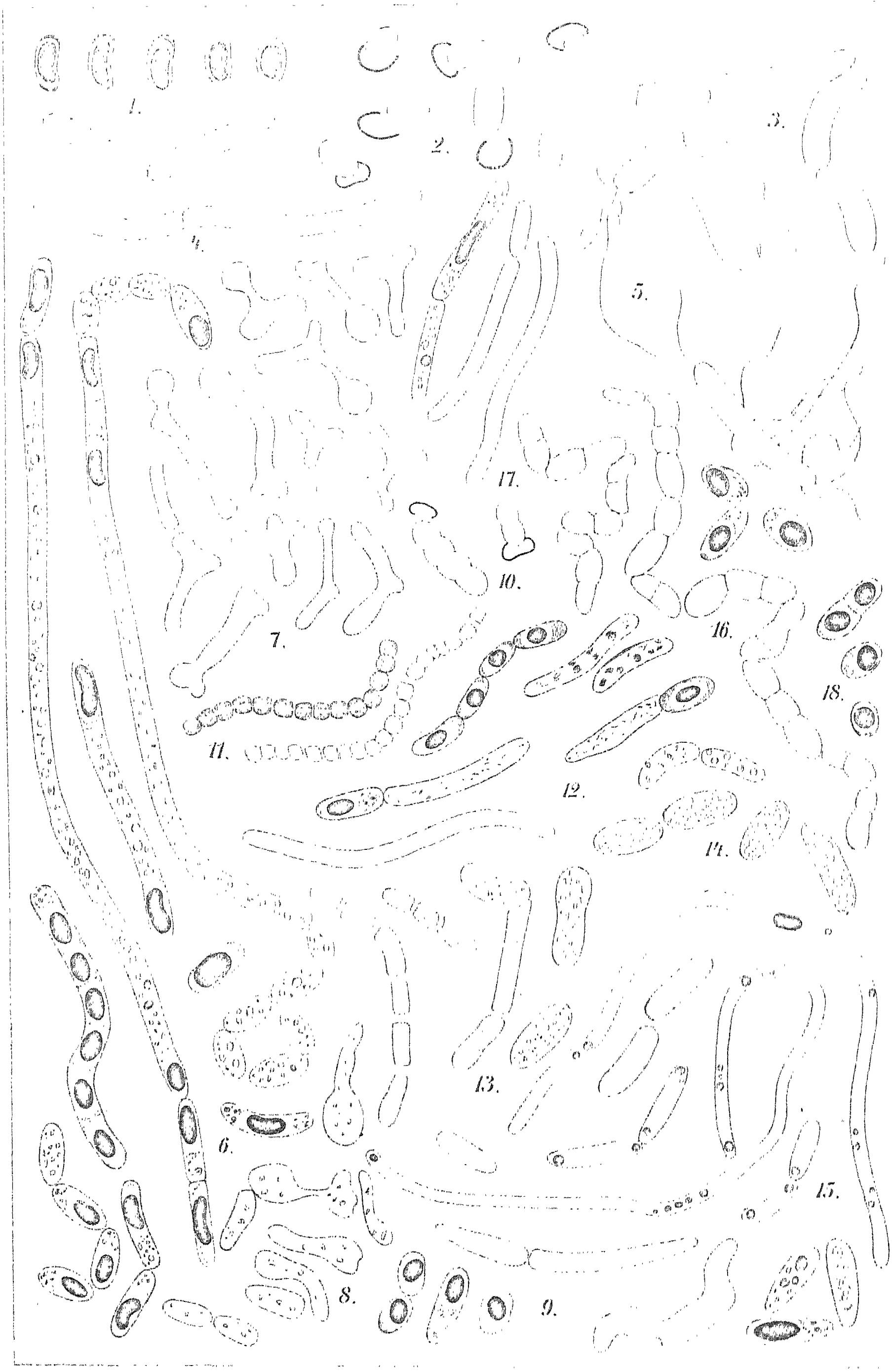
Beijerinck, M. W., Die Lebensgeschichte einer Pigmentbakterie. (Botan. Ztg. 1891.)
Buchner, H., Ueber die Ursache der Sporenbildung bei Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1890.)

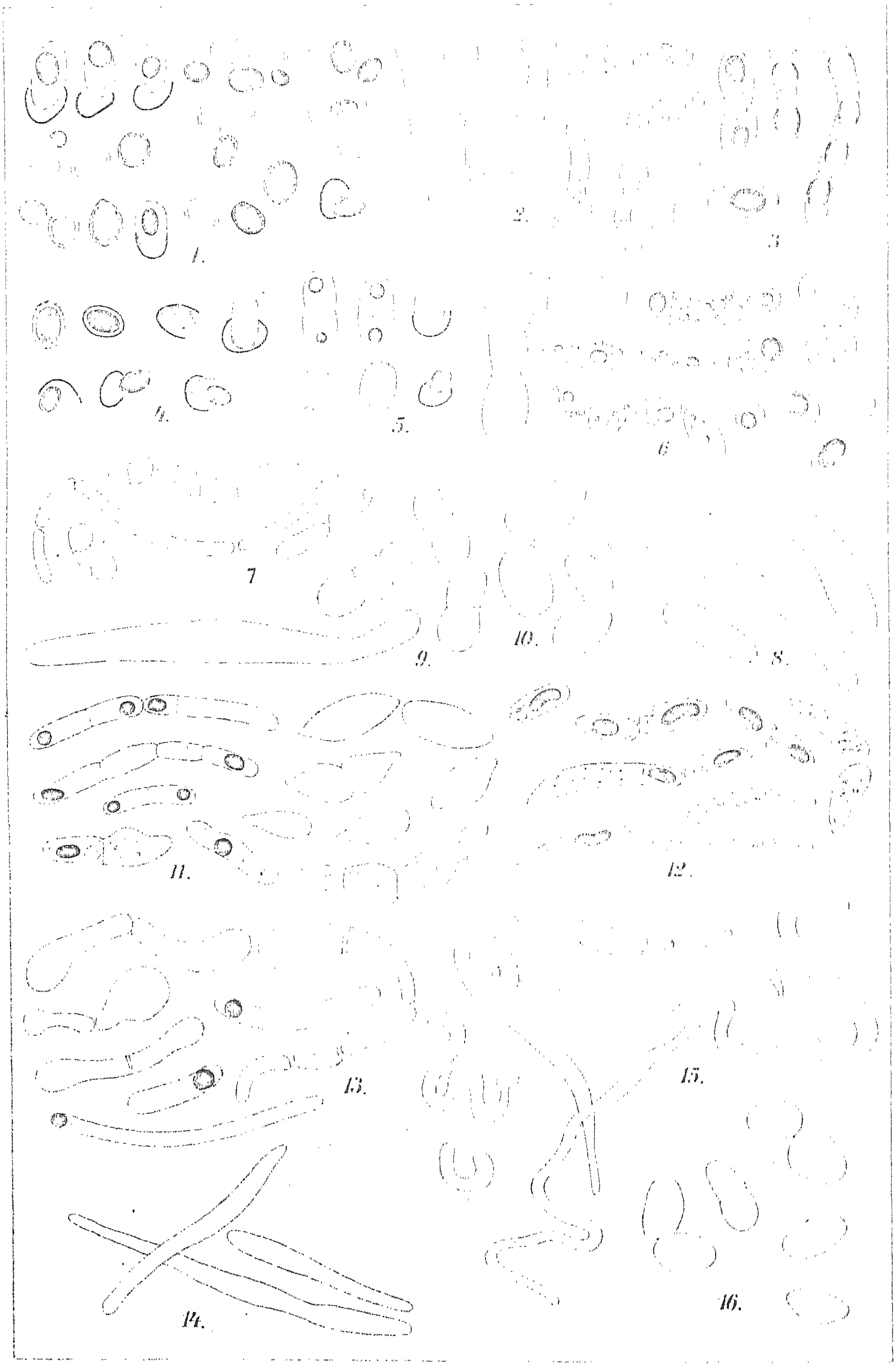
Conradi, H. und Kurpjuweit, Ueber spontane Wachstumshemmung der Bakterien infolge von Selbstvergiftung. (Münch. med. Wochenschr. 1905.)
Eijkmann, C., Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVII. 1904.)
—, Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien. (Centralbl f. Bakt. Abt. I. Bd. XLI. 1906).
Eisenberg, Ph., Ueber sekundäre Bakterienkolonieen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XL. 1906).
Fischer, B., Bakterienwachstum bei 0°. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. IV. 1888.)
Forster, J., Ueber einige Eigenschaften leuchtender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. II. 1887.)
—, Ueber die Entwickelung von Bakterien bei niederer Temperatur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XII. 1892.)
Fleroff, A., Penicillium purpurogenum n. sp. St. Petersburg.
—, Die Bedingungen der Pigmentbildung bei den Pilzen. St. Petersburg.
Hansen, E. Chr., Ueber die Brutstätten der Alkoholgärungspilze oberhalb der Erde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905.)
Heim, L., Versuche über blaue Milch. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. V. 1889.)
Koch, Alfr., Ueber Morphologie und Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bakterienformen. (Botan. Ztg. 1888.)
Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis der Erblichkeit bei den einzelligen Organismen. Die Verzweigung und Mycelbildung bei einer Bakterie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII—XIII. 1904.)
Matzuschita, T., Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen etc. (Archiv f. Hyg. Bd. XLIII. 1902.)
Meyer, Art., Notiz über eine die supramaximalen Tötungszeiten betreffende Gesetzmäßigkeit. (Ber. D. botan. Ges. 1906.)
—, Ueber Verzweigung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. 1901.)
Müller, M., Ueber das Wachstum und die Lebenstätigkeit der Bakterien, sowie den Ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur etc. (Archiv f. Hyg. Bd. XLVII. 1903.)
Prażmowski, A., Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig (Voigt) 1880.
Preisz, H., Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1903.)
Rahn, O., Ueber den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf das Wachstum der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906.)
Serkowski, Ueber Bau der Bakterienkolonien. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
Sigval Schmidt-Nielsen, Ueber einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
Schreiber, O., Ueber die physiologische Bedeutung der endogenen Sporenbildung bei Bac. anthracis etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XX. 1896.)
Sullivan, M., Die Chemie der Bakterienpigmente. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903.)
Wood Smith, R. F. and Baker, Julian. L., Bacillus luteus sporogenes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
Zopf, W., Ueber Ausscheidung von Fettfarbstoffen (Liprochromen) seitens gewisser Spaltpilze. (Ber. D. botan. Ges. Bd. IX. 1891.)

3. Abschwächung und Variabilität.

Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889.)
Caminiti, R., Ueber die Variabilität der Pigmentbildung bei den Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLIII. 1907.)
Chamberland, Ch. et Roux, E., Sur l'atténuation de la virulence de la bactéridie charbonneuse sous l'influence des substances antiseptiques. (Compt. rend. T. XCVI. 1883.)
—, Sur l'atténuation de la bactéridie charbonneuse et de ses germes sous l'influence des substances antiseptiques. (Compt. rend. T. XCVI. 1883.)
Chlopin, G. W. und Tammann, G., Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903.)
Conn, H. W., Natürliche Varietäten von Bakterien. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)

Dieudonné, A., Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. IX. 1894.)
Fokker, A. P., Versuch einer neuen Bakterienlehre. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1903.)
Gessard, M. C., Des races du bacille pyocyanique. (Annal. de l'inst. Pasteur. T. V. 1891.)
Guignard, S. et Charrin, Sur les variations morphologiques des microbes. (Compt. rend. T. CV. 1887.)
Hashimoto, S., Ein pleomorphes Bakterium. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899.)
Kasansky, M. W., Ueber den Einfluß der Kälte auf die Cholerabakterien von Koch und ähnliche Vibrionen von Finkler-Prior etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVII. 1895.)
Kirsten, A., Die Varietäten des Bac. oedematis maligni. [In.-Diss.] Bern 1905. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVI. 1905.)
Klepzoff, C., Zur Frage über den Einfluß niederer Temperaturen auf die vegetativen Formen des Bac. anthracis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVII. 1895.)
Laurent, E., Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. IV. 1890.)
Maassen, A., Die teratologischen Wuchsformen (Iuvolutionsformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amte. 1904.)
Masayasu Kanda, Studien über die Reizwirkung einiger Metallsalze auf das Wachstum höherer Pflanzen. (The Journ. of Coll. of sc. Univ. Tokyo. Vol. XIX. 1904.)
Matzuschita, T., Beobachtungen über den merkwürdigen Teilungsprozeß bei einem proteusartigen Luftbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
Meyer, J., Ueber Einwirkung flüssiger Luft auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900.)
Milburn, Th., Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
Neumann, R., Studien über die Variabilität der Farbstoffbildung bei Micrococcus pyogenes aureus etc. (Archiv f. Hyg. Bd. XXX. 1897.)
Olav Joh. Olsen, Zur Pleomorphismusfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897).
Õno, N., Zur Frage der chemischen Reizmittel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
Pasteur, L., De l'atténuation du virus du choléra des poules. (Compt. rend. T. XCI. 1880.)
—, Chamberland et Roux, De l'atténuation des virus et de leur retour à la virulence. (Compt. rend. T. XCII. 1881.)
—, —, —, Le vaccin du charbon. (Compt. rend. T. XCII. 1881.)
Phisalix, C., Influence de la chaleur sur la propriété sporogène du Bacillus anthracis etc. (Arch. de physiol. 1893.)
Richter, Andr., Zur Frage der chemischen Reizmittel. Die Rolle des Zn und Cu bei der Ernährung von Aspergillus niger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
Roux, E., Bactéridie charbonneuse asporogène. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. IV. 1890.)
Schierbeck, N. P., Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien etc. (Archiv f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1900.)
Schürmayer, Ueber Entwickelungscyklus und die verwandtschaftlichen Beziehungen höherer Spaltpilze etc. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
Smirnow, G., Ueber das Wesen der Abschwächung pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. 1888.)
Smith, Ervin F. and Swingle, Deane B., Der Einfluß des Gefrierens auf Bakterien. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1905.)
Surmont, H. et Arnould, E., Recherches sur la production du bacille du charbon asporogène. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. VIII. 1894.)
Wasserzug, E., Sur la formation de la matière colorante chèz le Bacillus pyocyaneus. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. I. 1887.)
Weil, Rich., Künstliche Herstellung von Sporenmaterial von einem bestimmten Resistenzgrade etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901.)
Winkler, Willibald, Untersuchungen über das Wesen der Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.)
Winogradsky, S., Clostridium pastorianum, seine Morphologie etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902.)
Wróblewski, A., Verhalten des Bac. mesentericus vulgatus bei höherer Temperatur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895.)


1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.


1.
2.
3.
4.
5.
6.
7
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.

4. Chemische Zusammensetzung der Membran.

Beijerinck, M. W., Ueber die Arten der Essigbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)

Emmerling, O., Zur Kenntnis des Sorbosebakteriums. (Ber. D. chem. Gesellsch. Bd. XXXII. 1899.)

Helbing, C., Erklärungsversuch für die spezifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen. (Vereinsbeilage der D. med. Wochenschr. Bd. XXVI. 1900.)

Henneberg, W., Zur Kenntnis der Schnellessig- und Weinessigbakterien. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907.)

Iwanoff, K., Ueber die Zusammensetzung der Eiweißstoffe und Zellmembranen bei Bakterien und Pilzen. (Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1902.)

Meyer, Art., Ueber Chlamydosporen und über sich mit Jod blau färbende Zellmembranen bei den Bakterien. (Ber. D. botan. Ges. Bd. XIX. 1901.)

Nishimura, T., Ueber den Cellulosegehalt tuberkulöser Organe. (Archiv f. Hyg. Bd. XXI. 1894.)

Ruppel, W. G., Zur Chemie der Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXVI. 1898.)

Van Wisselingh, C., Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXI. 1898.)

Figurenerklärung.

Tafel I. Bacillus luteus.

Fig. 1. Sporen. Kultur auf neutralem Fleischextrakt-Peptonagar bei 28°.
Fig. 2. Sporenkeimung.
Fig. 3. Teilung der Keimstäbchen.
Fig. 4. Ruhestäbchen, 6—8 Stunden alt.
Fig. 5. Schwärmer mit Geißeln, gefärbt nach Löffler.
Fig. 6. Sporangien.
Fig. 7. Verzweigte Formen.
Fig. 8. Formen der sekundären Kolonieen.
Fig. 9. Entwickelung auf Dextroseagar.
Fig. 10. Normale Entwickelung in Bouillonkultur, 6 Stunden alt.
Fig. 11. Krankhafte Entwickelung (Kokkenzerfall) in Bouillon.
Fig. 12. Entwickelung auf Salpeter-Glycerin-Agar.
Fig. 13. „ auf Ammoniumtartrat-Glycerin-Agar.
Fig. 14. Ruhestäbchen der alten (bis 3 Monate) Ammoniumtartrat-Glycerin-Agarkulturen.
Fig. 15. Umwandlung der Formen einer Ammoniumtartrat-Glycerinkultur in Schwärmer und Sporangien beim Uebertragen in Wasser.
Fig. 16, 17, 18. Entwickelung auf schwach alkalischem Fleischextrakt-Peptonagar.

Tafel II. Bac. tumescens.

Fig. 1. Nachkeimung der Sporen auf normalem Dextroseagar. Sporen, Sporenhäute und Keimsporangien.
Fig. 2. Formen der sekundären Kolonieen auf normalem Dextroseagar.
Fig. 3. Absterbende Sporangien mit ausgesaugtem Sporeninhalt.
Fig. 4. Verhalten der Sporen bei 0°.
Fig. 5. Verhalten der normalen (bei 28° entstandenen) Keimstäbchen bei 0°.
Fig. 6. Entwickelung bei 7—9°.
Fig. 7. „ „ 45°.
Fig. 8. Vegetative Formen auf phenolhaltigem Agar.
Fig. 9. „ „ „ Agar mit Kaliumbichromat.
Fig. 10. „ „ „ „ mit Kupfersulfat.

Bac. luteus.

Fig. 11. Verhalten der vegetativen Formen (8 Stunden bei 28° vorkultivierten) bei 7—9°.
Fig. 12. Entwickelung bei Zimmertemperatur (14—24°).
Fig. 13. „ „ 45°.
Fig. 14. Fadenbildung auf phenolhaltigem Agar.
Fig. 15. Vegetative Formen auf Agar mit Kaliumbichromat.
Fig. 16. „ „ „ „ mit Kupfersulfat.

Market milk, bacteriological data.

By **F. L. Stevens**, Ph. D.,
Professor of Botany and Vegetable Pathology, North Carolina College of Agriculture, Bacteriologist, Raleigh Milk Commission.

With 2 tables containing the curves.

The data herewith presented have accumulated during routine examination of 235 samples of the milk of Raleigh, a continuation of work previously reported [1]). These results are submitted with discussion with the hope of extending our comparatively meager knowledge relative to the condition of milk offered for sale in warm latitudes. Together with the possible effect of temperature as caused by latitude is linked such effects as arise from modes of dairy practice different from those employed in other sections, particularly the effect of unskilled negro labor.

The entire milk supply of Raleigh is furnished by local dairymen, none of it being shipped upon railroads from distant dairies. Much of it is delivered from cans from which it is drawn by faucet on the street. Much is bottled at the dairy and so delivered.

The samples herein reported were collected in sterile quart bottles by the city milk inspector upon the street. These were delivered as soon as possible at the laboratory where they were immediately examined. Each sample was thouroughly mixed, diluted with sterile water to 1:600, 1:2000, or 1:100000, as was deemed proper and plated in beef agar of +5 acidity, Fullers scale, containing 10 g of lactose per litre. The plates were incubated at 37° for three days and the colonies counted. In a few instances the number of colonies so exceeded expectation that with the dilution employed it was impossible to make count. Such were reported as "to many too count". Analysis for fat, solids not fat, and lactometer readings were also made, but for brevity are omitted from the following tables.

(See Table p. 115—118.)

The maximum number of bacteria actually recorded in any sample is 54000000 on April 4th, and it is not probable that any sample exceeded this. The minimum number of bacteria is 1200 taken on November 17th. Of 235 samples, 106, i. e. 45 per cent, exceeded a half million, 76 i. e. 32 per cent, exceeded one million, while three, and possibly ten samples exceeded ten millions. Only 64, i. e. 27 per cent, contained less than 100000 bacteria, and only 8, i. e. $3^1/_2$ per cent, had less than 10000.

As a rule the larger dairies, producing milk enough to necessitate delivery by wagon were more contaminated with bacteria, while the small producers having only one or two cows, sold milk of much lower bacterial content, though exceptions exist in both instances.

In Table I is shown graphically the variations in solids not fat, fat, bacteria, together with the temperature of the air, of the milk, and the age of the samples when analyzed. These results are presented in the forms of averages of each lot of milk received at a given date. While the facts here presented are not strictly comparable, the milk from one lot of dairies being considered one day, that of other dairies another day, still some generalization is permissible. It is to be noted that the solids not fat fluctuated between 7,7 and 8,8, the lowest figure being due

1) Purity of Raleigh's milk supply. Report submitted to the committee appointed by the Raleigh Board of Aldermen May 1905.

No.	Date	Age	Temp. of milk	Acidity	Colonies per c. c.
1	Sept. 21, 1905	4	79		48 000
2	"	7 : 30	80		48 000
3	"	4 : 30	80		54 000
4	"	3 : 30	79		10 000
5	"	11	78		8 000 000
6	"	2 : 30	79,5		192 000
7	"		82		103 000
8	"	5 : 30	81		126 000
9	"	4 : 30	82,5		2 500 000
10	"	3 : 30	79,5		34 000
11	Oct. 3, 1905	6 : 30	74	.238	600 000
12	"	2	72	.216	14 000
13	"	3 : 30	74	.160	16 000
14	"	1 : 50	77	.208	15 000
15	"	2	75	.203	1 628 000
16	Oct. 9, 1905	8 : 30	74	.179	480 000
17	"	3	68	.221	21 000
18	"	5 : 45	68	.208	102 000
19	"	5 : 30	68	.168	75 000
20	"	4 : 45	68	.170	300 000
21	"	5 : 30	68	.207	66 000
22	"	5 : 30	68	.196	14 000
23	"	4 : 30	68	.238	50 000
24	Nov. 17, 1905	12 : 30	56	.228	75 000
25	"	12 : 30	56	.218	25 000
26	"	11 : 30	56	.197	14 000
27	"	9	56	.182	46 000
28	"	13	56	.147	6 000
29	"	12 : 15	56	.183	1 200
30	"	10 : 45	56	.249	390 000
31	"	16	56	.267	230 000
32	"	19	56	.216	72 000
33	"	13 : 15	56	.175	7 000
34	Dec. 8, 1905	10		.177	12 500
35	"	9 : 30		.186	36 000
36	"	9 : 30		.172	75 000
37	"	8 : 30		.183	9 000
38	"	8 : 30		.195	35 000
39	"	8		.227	5 000
40	"	7 : 30		.210	30 000
41	"	5		.220	18 000
42	"	6 : 30		.237	8 400
43	"	9 : 30		.167	1 600
44	March 27, 1906	6 : 30	62	.24	270 000
45	"	5 : 30	62	.21	25 200
46	"	7	62	.19	1 590 000
47	"	6 : 30	62	.20	3 054 000
48	"	5 : 30	62	.22	5 130 000
49	"	8	62	.18	117 000
50	"	4 : 30	62	.17	4 608 000
51	"	7	62	.17	1 628 000
52	"	6 : 30	62	.19	29 000
53	April 4, 1906	10	61	.22	19 200
54	"	6 : 30	61	.19	48 000
55	"	6 : 30	61	.23	840 000
56	"	3 : 45	61	.24	12 600
57	"	5 : 30	61	.17	1 260 000
58	"	5	61	.19	23 000
59	"	2 : 30	61	.23	44 000

No.	Date	Age	Temp. of milk	Acidity	Colonies per c. c.
60	April 4, 1906	2	61	.18	900 000
61	April 6, 1906	0:45	61	.24	78 000
62	"	6:30	62	.18	72 000
63	"	5	62	.22	108 000
64	"	5:30	62	.25	195 000
65	"	5	62	.26	270 000
66	"	5	62	.19	660 000
67	"	5	62	.21	1 440 000
68	"	5	62	.19	510 000
69	"	5:30	62	.20	Too many to count
70	"	7	62	.24	720 000
71	"	6	62	.23	600 000
72	April 20, 1906	6	72	.21	2 000 000
73	"	6	72	.24	Too many to count
74	"	5:30	72	.19	" " " "
75	"	4	72	.17	" " " "
76	"	5	72	.22	360 000
77	"	5	72	.23	150 000
78	"	11	72	.20	Too many to count
79	"	6:30	72	.21	480 000
80	"	6:30	72	.26	114 000
81	April 25, 1906	7	55	.20	900 000
82	"	7	55	.23	1 500 000
83	"	6:30	55	.19	390 000
84	"	6:30	55	.18	450 000
85	"	6	55	.24	87 000
86	"	5	55	.22	75 000
87	"	4:15	55	.19	60 000
88	April 27, 1906	7:30	83	.24	1 320 000
89	"	9	83	.23	35 000
90	"	6	83	.21	7 200 000
91	"	7	83	.22	900 000
92	"	9	83	.19	1 140 000
93	"	12	83	.24	5 100 000
94	"	10	83	.17	4 800 000
95	"	13	83	.26	4 200 000
96	"	6	83	.25	540 000
97	May 4, 1906	7	77	.56	2 700 000
98	"	11	77	.19	7 200 000
99	"	6	77	.20	500 000
100	"	4:30	77	.21	150 000
101	"	3	77	.17	1 200 000
102	"	3	77	.18	54 000 000
103	"	6	77	.17	30 000 000
104	May 5, 1906	5:30	81	.21	438 000
105	"	5	81	.19	180 000
106	"	5:30	81	.17	395 000
107	"	5:30	81	.22	360 000
108	"	8:30	81	.23	240 000
109	"	5	81	.18	30 000 000
110	"	5	81	.24	90 000
111	"	5	81	.25	144 000
112	"	10	81	.24	1 200 000
113	"	6	81	.19	367 000
114	May 18, 1906	6	86	.20	60 000
115	"	2	86	.22	111 000
116	"	5:30	86	.24	58 000
117	"	5:30	86	.21	720 000
118	"	3:30	86	.19	120 000

No.	Date	Age	Temp. of milk	Acidity	Colonies per c. c.
119	May 18, 1906	3	86	.23	480 000
120	„	3	86	.25	840 000
121	May 22, 1906	4	78	.22	50 000
122	„	6	78	.19	150 000
123	„	5:30	78	.19	120 000
124	„	8	78	.17	75 000
125	May 29, 1906	7	68	.20	558 000
126	„	7	68	.15	61 000
127	„	6	68	.20	1 182 000
128	„	6	68	.18	4 680 000
129	„	5:30	68	.19	117 000
130	„	5:30	68	.24	106 000
131	„	5	68	.21	57 000
132	„	5	68	.17	53 000
133	„	4:30	68	.19	72 000
134	June 15, 1906	9	78	.29	657 000
135	„	3:30	80	.27	638 000
136	„	4	80	.25	576 000
137	„	5	80	.23	74 000
138	„	5	80	.27	51 000
139	„	4	80	.26	591 000
140	„	4:30	80		Too many to count
141	„	6	80	.25	2 700 000
142	„	2	80	.22	540 000
143	„	3:30	80	.22	675 000
144	June 19, 1906	5	74	.19	144 000
145	„	5:30	72	.17	444 000
146	„	5	72	.18	225 000
147	„	5	72	.21	378 000
148	„	6	71	.23	5 400 000
149	„	5:30	73	.18	1 488 000
150	„	3	72	.21	1 188 000
151	„	2:30	73	.23	2 000 000
152	„	4:30	72	.19	252 000
153	„	3:30	73	.25	2 556 000
154	June 22, 1906	7	84	.23	4 500 000
155	„	6:30	84	.22	1 750 000
156	„	5:30	84	.20	95 000
157	„	4	83	.20	3 000 000
158	„		83	.20	100 000
159	„	5:30	83	.17	700 000
160	„	4	83	.22	6 000 000
161	July 6, 1906	5:30	72	.16	240 000
162	„	5	72	.18	Over 5 000 000
163	„	8:30	72	.19	4 500 000
164	„	5:30	72	.15	Over 5 000 000
165	„	3:30	72	.18	640 000
166	„	5:30	72	.16	4 230 000
167	„	4:30	72	.17	67 000
168	„	4:30	72	.19	420 000
169	July 20, 1906	5	68	.16	3 820 000
170	„	4	68	.16	200 000
171	„	3	67	.175	1 480 000
172	„	3	68	.18	160 000
173	„	2	66	.15	90 000
174	„	2	70	.20	310 000
175	„	4	69	.17	67 000
176	„	3	72	.165	445 000
177	July 24, 1906	3	78	.20	380 000

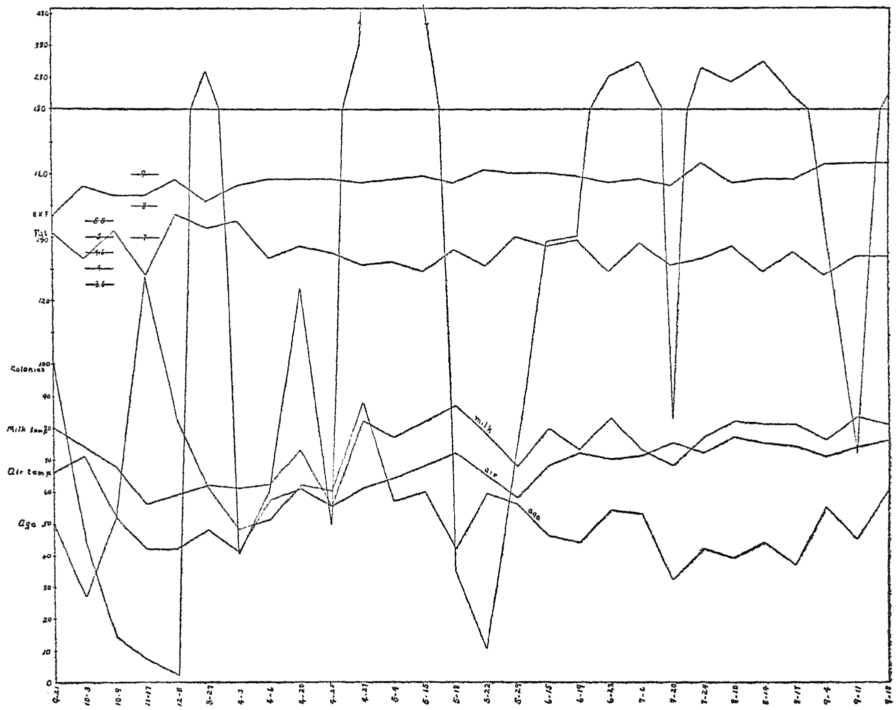
No.	Date	Age	Temp. of milk	Acidity	Colonies per c. c.
178	July 24, 1906	5	76	.17	750 000
179	„	2 : 30	76	.205	5 200 000
180	„	4 : 30	75	.208	500 000
181	„	5 : 30	76	.17	3 700 000
182	„	4 : 30	76	.13	300 000
183	„	4 : 30	77	.18	270 000
184	„	3 : 30	78	.20	2 300 000
185	„	3 : 30	78	.18	7 550 000
186	Aug. 10, 1906	5	82	.16	3 500 000
187	„	2 : 30	81	.21	50 000
188	„	8	82	.19	Over 5 000 000
189	„	4 : 30	82	.17	„ 5 000 000
190	„	2 : 30	82	.18	40 000
191	„	2 : 30	82	.18	490 000
192	„	2 : 30	82	.18	2 300 000
193	„	5	82	.19	400 000
194	Aug. 14, 1906	6	80	.16	152 000
195	„	6	82	.28	Too many to count
196	„	3	80	.17	Over 5 000 000
197	„	5	80	.18	600 000
198	„	5	80	.17	Too many to count
199	„	3	81	.18	334 000
200	„	3	81	.19	1 000 000
201	„	4 : 30	81	.17	400 000
202	Aug. 17, 1906	4 : 30	81	.19	2 000 000
203	„	8	80	.30	Over 5 000 000
204	„	3 : 30	81	.17	450 000
205	„	4 : 30	81	.18	4 000 000
206	„	4 : 30	81	.19	420 000
207	„	1 : 30	81	.17	190 000
208	„	2 : 30	81	.18	800 000
209	„	2 : 30	81		
210	Sept. 4, 1906	4	76	.18	1 000 000
211	„	8	76	.19	5 000 000
212	„	4	76	.17	50 000
213	„	8	76	.16	600 000
214	„	4	75	.18	450 000
215	„	5	75	.18	1 000 000
216	„	4	75	.17	600 000
217	„	8	75	.18	4 000 000
218	„	5	76	.17	370 000
219	Sept. 11, 1906	3	81	.12	500 000
220	„	4	81	.22	70 000
221	„	4	81	.16	50 000
222	„	4	82	·19	620 000
223	„	5	82	.16	1 000 000
224	„	5	81	.19	1 700 000
225	„	4	82	.18	480 000
226	„	5	82	.20	1 200 000
227	„	6	82	.46	Too many to count
228	Sept. 18, 1906	4	81	.16	220 000
229	„	8	81	.16	5 000 000
230	„	8	81	.19	6 200 000
231	„	7	81	.32	1 000 000
232	„	7	81	.19	2 500 000
233	„	5	81	.23	850 000
234	„	4	81	.14	420 000
235	„	5	81	.16	120 000

to the presence in one lot of two samples of very low content, viz. 5,68 and 6,86. The fat ranged from 3,7 to 4,9.

As is to be expected the curve representing the temperature of the milk closely parallels that of the air temperature, though running above it.

That the temperature has greater effect upon the bacterial development than the age of the milk within the limits here considered is evident in several instances, particularly in the analyses of Nov. 17 where the milk, the oldest analyzed, approached a minimum as regards bacteria owing to the drop in temperature; similarly throughout the latter half of the table, though the age curve ran low, the bacterial curve is high owing to the heat.

That the conditions of the dairies from which the milk comes outweighs both the influence of age and temperature comes out strongly in several instances, notably May 22 when a very low bacterial content was found though neither the age of the milk nor the temperature were such as to warrant such expectation. Inspection of the source of the milk



Legend for Table I. Curves showing fluctuations in: Solids not fat: (S. N. F.) note special scale marked 7, 8, and 9. Fat: Note special scale marked 3,5, 4, etc. to 5,5. Colonies: Marginal figures to be multiplied by 10000 to give actual number of colonies per c. c., above the line marked 180 the scale is decreased so that 1 = 50000. Milk temperature and air temperature: Read in centigrade degrees on margin. Age: Each ten units on margin represent one hour e. g. 50 = 50 hours old. Dates are indicated on base line. The bacterial curve disappearing above the chart reaches a maximum of 3670000.

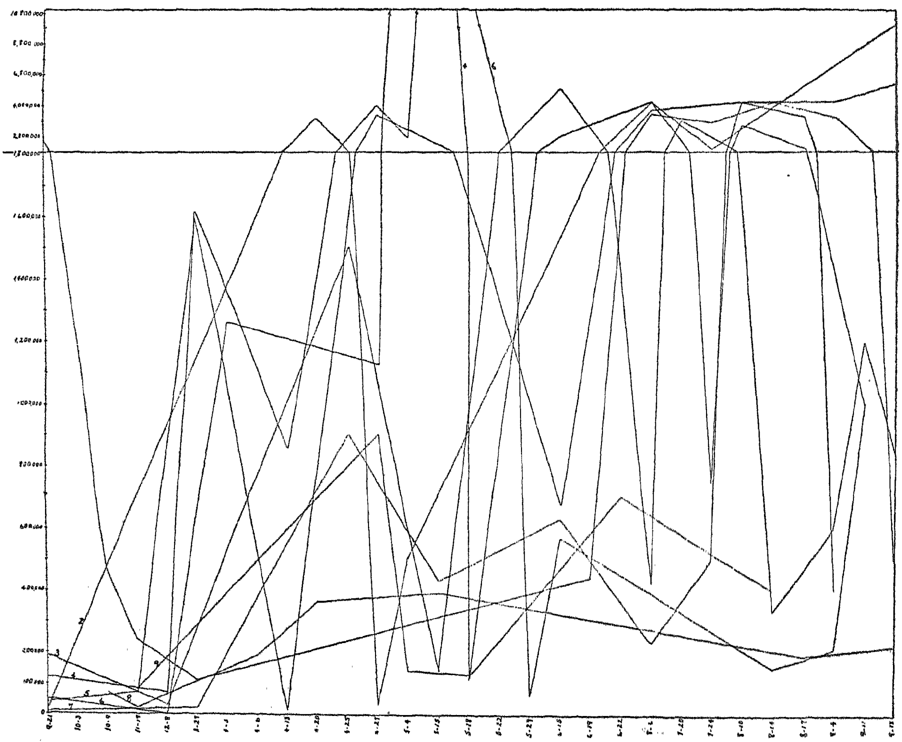
The figures at the left beginning at the bottom and reading upward are as follows: 0, 100000, 200000, 400000, 600000, 800000, 1000000, 1200000, 1400000, 1600000, 1800000, 2800000, 4000000, 6800000, 8800000, 10800000. The dates a long the base line reading from left to right are as follows: 9—21, 10—3, 10—4, 11—17, 12—8, 3—27, 4—3, 4—6, 4—20, 4—25, 4—27, 5—4, 5—15, 5—18, 5—22, 5—29, 6—15, 6—19, 6—22, 7—6, 7—20, 7—24, 8—10, 8—14, 8—17, 9—4, 9—11, 9—18.

that date reveals the fact that it came from dairies of the better class. Again on July 20 we see the same condition.

In Table II are presented curves showing bacterial content of milk of nine individual dairies. The temperature and age curves on Table I may be consulted for comparison. They are incomplete, data being available only at points of break in the curve as indicated by dots. Intervening parts of the curve are without significance, and serve only to aid the eye to recognize which data belong to each dairy. This table, though incomplete, is more significant than Table I, since the facts here presented are strictly comparable.

These analyses support the contention that within reasonable limits the kind of dairy which produces the milk is of greater influence upon the bacterial content of the milk than is the age of the samples or the temperature, and conversely that bacterial analysis will reveal the character of the dairy producing the milk in spite of reasonable variation in age of the sample, or the temperature of the air and milk.

It is seen here that on Sept. 21 the cold resulted in low bacterial content with the exception of Dairy No. 1 in which other conditions far outweighed the temperature influence. The cold of Nov. 17 brought a corresponding depression in the bacterial content of all dairies (notwith-



Legend for Table II. Bacterial curve for Individual Dairies Nos. 1 to 9. Note change of scale above the 1800000 line. Nos. 4 and 6 reached each a maximum of 30000000, not shown on the table.

The figures in the vertical column to the left of the table beginning at bottom are as follows: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 280, 380, 480.

The figures on the base line reading from left to right are as follows: 9—21, 10—3, 10—9, 11—17, 12—8, 3—22, 4—3, 4—6, 4—20, 4—25, 4—27, 5—4, 5—15, 5—18, 5—22, 5—29, 6—15, 6—19, 6—22, 7—6, 7—20, 7—24, 8—10, 8—14, 8—17, 9—4, 9—11, 9—18.

standing the great age of the samples), while the slight rise in temperature on March 27 caused a corresponding rise in all of the curves.

All samples did not respond equally to temperature variation, and the character of the dairies comes out much more clearly in warm than during cool weather. As the temperature continues high some of the dairies remain of comparatively low bacterial content, while others soar to great heights and there remain. Others again fluctuate widely. The fact comes out clearly through this table that it is the character of the individual dairy rather than age of sample or temperature of milk, within the limits considered, which determines the bacterial content. Further, the great fluctuations of some dairies, quite out of proportion to the changes in temperature, often the opposite of that expected, indicate great daily variation in cleanliness.

Nachdruck verboten.

Ueber Stickstoffbindung im Ackerboden.

Von **H. Warmbold** in Uelzen.

Herr Prof. Th. Pfeiffer-Breslau und seine Mitarbeiter haben einen Teil meiner Arbeit „Untersuchungen über die Biologie N-bindender Bakterien“ [1]) einer Kritik unterzogen [2]), zu der Stellung zu nehmen der Zweck der folgenden Ausführungen ist. Wenn diese Entgegnung erst heute erfolgt, so ist der Grund dafür der, daß ich erst neue Versuche über den streitigen Gegenstand anstellen wollte, die infolge Wechsels meiner bisherigen Tätigkeit und starker dienstlicher Inanspruchnahme sich nur mit Schwierigkeiten zur Ausführung und zum Abschluß bringen ließen.

In meiner obengenannten Arbeit sind 5 Versuchsreihen beschrieben, in denen roher und steriler, durch H_2SO_4 gegen die Außenluft abgesperrter Boden bei verschiedenen Temperaturen auf die Veränderungen im N-Gehalte bei längerem Stehen beobachtet wurde. In zwei von den ausgeführten 5 Versuchsreihen trat sowohl im rohen als auch im sterilen Boden eine die unvermeidlichen Fehlergrenzen bedeutend übersteigende N-Bindung ein, die in 3 Versuchsreihen jedoch ausblieb. Herr Prof. Pfeiffer berichtet nun in seinen oben genannten Ausführungen über Versuche mit 5 verschiedenen Ackerböden, die er, den bei meinen Versuchen gewählten Bedingungen folgend, in sterilem Zustande auf die Fähigkeit der N-Bindung untersucht hat. Die Böden haben nach 36- bis 47-tägigem Stehen keine N-Anreicherung, sondern einen kleinen N-Verlust aufzuweisen gehabt. Es sind von mir ebenfalls zwei neue Versuchsreihen mit den bei meinen früheren Versuchen benutzten Böden ausgeführt worden. Der sterilisierte Boden wurde nach 32-tägigem Stehen unter ähnlichen Bedingungen wie bei meinen früheren Versuchen auf die Veränderungen im N-Gehalte untersucht.

In Versuchsreihe I betrug der N-Gehalt, nach der Sterilisation im Autoklaven (2 Stunden bei 2 Atm. Ueberdruck) nach der Methode Jodlbaur ermittelt, im Mittel von 9 Analysen

0,1080 Proz.

Nach 32tägigem Stehen ergab sich in Mittel von 10 Analysen ein N-Gehalt von

0,1008 Proz.,

so daß ein Verlust von 0,0072 Proz. N eingetreten ist. In der II. Ver-

1) Landw. Jahrbücher 1906, p. 1 ff.

2) Mitteilungen der landw. Institute der Universität Breslau. Bd. III. p. 899 ff.

suchsreihe betrug der N-Gehalt nach der Sterilisation im Mittel von 10 Analysen

0,1104 Proz.,

nach 32-tägigem Stehen in Mittel von 10 Analysen

0,1088 Proz.,

so daß auch hier ein Verlust von 0,0016 Proz. zu verzeichnen ist.

Sowohl in den Versuchen des Herrn Prof. Pfeiffer wie auch in meinen neuen Versuchsreihen ist eine N-Anreicherung des sterilen Bodens nicht eingetreten. Daß auf eine solche N-Anreicherung nicht mit absoluter Sicherheit gerechnet werden konnte, geht schon aus meinen früheren Versuchen hervor, in denen sie nur in zwei von fünf Reihen in so starkem Maße eintrat, daß Fehler und Schwankungen der Analyse sie unmöglich vorgetäuscht haben können. Meine früher gezogene Schlußfolgerung, die Herr Prof. Pfeiffer kritisiert, dürfte, da sie diese Tatsache einfach feststellt unter der Hinzufügung, daß bei drei unter gleichen Bedingungen ausgeführten Versuchsreihen die N-Bindung aus unbekannter Ursache ausblieb, die tatsächlichen Beobachtungen hinreichend klar zum Ausdruck gebracht haben.

Auch Herr Prof. Koch hat schon vor der Anstellung meiner oben genannten Versuche von einer während der Wintermonate (November bis März) in Ackererde, die in 4 verschiedenen Tiefenstufen von 0–80 cm dem Göttinger Versuchsfelde entnommen und in großen, mehrfach umgeschaufelten Haufen auf einem Betonboden im Freien lagerte, eingetretenen N-Bindung berichten können[1]).

Die N-Zunahmen betrugen 0,019–0,035 Proz. und blieben in dem gleichen, in natürlicher Lage verbliebenen Boden aus. Daß die obigen Erhöhungen des N-Gehaltes tatsächlich eingetreten waren und im Einklange mit der analytischen Feststellung standen, beweist die Erhöhung der Ernteerträge, welche der an N angereicherte Boden gegenüber dem nicht angereicherten während mehrerer Jahre in Topfvegetationsversuchen ergeben hat. Im ersten Vegetationsjahre betrugen die Ernten, wenn man die des an N nicht angereicherten Bodens gleich 100 setzt, auf den 4 verschiedenen Tiefenstufen bei Hafer 197—237, bei Senf 107—457, bei Buchweizen 168–220, bei Rüben 208–231.

Herr Prof. Pfeiffer wendet sich weiter gegen die bei meinen Versuchen aufgestellte Fehlergrenze der N-Bestimmungen und hält die an der Spitze meiner diesbezüglichen Erörterungen abgedruckten Sätze: „Die Freierde enthält Bestandteile von äußerst verschiedener Korngröße, die auch zugleich noch ein verschiedenes spezifisches Gewicht und verschiedenen N-Gehalt haben. Diese Verhältnisse bedingen die größeren Schwankungen, welche N-Bestimmungen im Boden gegenüber denen in Lösungen stets erkennen lassen“ für in Widerspruch stehend mit den dann folgenden Versuchsresultaten. Es zeigt jedoch eine nähere Betrachtung der unmittelbar an den obigen Satz sich anschließenden Versuchsergebnisse die Richtigkeit des aufgestellten Satzes.

In den aufgeführten acht nach der Methode Jodlbauer ausgeführten Parallelanalysen, in denen 30—33 g lufttrockener Boden verwendet wurde, beträgt die größte Abweichung zwischen zwei Parallelbestimmungen 0,00258 Proz. N, bei einem mittleren N-Gehalte von 0,10039 Proz.

Bei Anwendung von 30 g Bodentrockensubstanz mit einem N-Gehalte von 0,10039 Proz. betrug die pro Analyse vorhandene N-Menge rund 30 mg, die Differenz zwischen den am meisten schwankenden Parallel-

1) Lafar, Handbuch der techn. Mykologie u. Bodenbakteriologische Forschungen u. ihre prakt. Bedeutung (Vortrag) p. 17.

analysen betrug in absoluter Menge rund 0,8 mg, oder etwa 2,66 Proz. der vorhandenen N-Menge.

Dagegen zeigten die an einer Salpeterlösung ausgeführten N-Bestimmungen bei einer absoluten N-Menge von in Mittel 26,63 mg pro Analyse als größte Schwankung zweier Parallelbestimmungen 0,17 mg, d. h. rund 0,63 Proz. der vorhandenen N-Menge. Die Abweichung zwischen den am meisten differierenden Parallelanalysen war somit bei Lösungen N-haltiger Körper 4mal kleiner als bei den ausgeführten Bodenuntersuchungen, ganz im Einklange mit dem oben angeführten, von Herrn Prof. Pfeiffer monierten Satze. Was weiter die kritisierte Uebereinstimmung der Parallelanalysen betrifft, so muß ich darauf hinweisen, daß sie durchaus nicht vereinzelt dasteht, sondern durchgehends und zwar bei größeren Analysenreihen, wie Herr Prof. Pfeiffer sie fordert, auch von Anderen erreicht wurde. B. Tacke schreibt z. B.[1]: „Im ungünstigsten Falle machte also der Fehler für 100 g Boden 0,0024 g N aus. Der tatsächliche Fehler wird dagegen meist kleiner gewesen sein."

Liebscher[2]) gibt Analysenreihen an, in denen bei Verwendung von 20 g lufttrockenem Boden pro Analyse die größten Schwankungen betrugen bei:

10 Parallelanalysen 0,52 mg N
12 „ 1,85 „ N

bei Verwendung von 25 g lufttrockenem Boden und 10 Parallelbestimmungen 0,86 und 2,45 mg N. Den wahrscheinlichen Fehler der 4 Analysenreihen berechnet Liebscher in Prozent der Bodentrockensubstanz zu

0,00026 Proz. N
0,00090 „ N
0,00034 „ N
0,00016 „ N

Im Durchschnitt des gesamten Analysenmaterials berechnet Liebscher die Genauigkeit der N-Bestimmung für zwei verschiedene Jahre zu

0,00058 und 0,00065 Proz. N.

Herr Prof. Pfeiffer veröffentlichte in Anschluß an die Liebschersche Arbeit ein ebenfalls sehr reichhaltiges Analysenmaterial, über dessen Gewinnung und über dessen Differenzen das Bezüglich hier Platz finden mag[3]). „Die Wurzelrückstände (es handelt sich um die Untersuchung eines für Vegetationsversuche benutzten Bodens) wurden möglichst fein zerschnitten und hierauf fand ein sehr inniges Durchmengen mit den Händen statt.... Zur N-Bestimmung wurden jedesmal 10 Proben à 25 g abgewogen.

Die bei der Titration zwischen je 10 Parallelbestimmungen auftretenden Maximaldifferenzen betrugen

bei Erbsenboden			bei Senfboden		
in 1 Falle	0,20	ccm Barytwasser[4])	in 4 Fällen	0,10	ccm Barytwasser[4])
„ 2 Fällen	0,25	„ „	„ 6 „	0,15	„ „
„ 6 „	0,30	„ „	„ 2 „	0,20	„ „
„ 4 „	0,35	„ „	„ 1 Falle	0,25	„ „
„ 4 „	0,40	„ „	„ 4 Fällen	0,30	„ „
„ 1 Falle	0,55	„ „	„ 1 Falle	0,35	„ „

Da Liebscher mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate beispielsweise berechnet hat, daß bei Anwendung von 25 g Boden und einer Maximaldifferenz von 0,9 ccm Barytwasser (Titer 0,002729 g N) die wahrscheinliche Fehlergröße 0,00116 Proz. beträgt, müßten wir für unsere Resultate einen

1) Landw. Jahrbücher 1889. p. 440—462.
2) Journal f. Landw. 1893. p. 154—155.
3) Landw. Versuchsstationen. Bd. XLVI. p. 127.
4) 1 ccm Barytwasser 0,00238—0,00295 g N.

hohen Grad von Wahrscheinlichkeit annehmen.“ In der Tat, denn im Mittel der mitgeteilten Abweichungen würden die Maximaldifferenzen betragen

bei Erbsenboden	bei Senfboden
0,336 ccm $Ba(OH)_2$, und wenn	0,2 ccm $Ba(OH)_2$, und wenn
im Mittel 1 ccm = 2,66 mg N,	1 ccm = 2,66 mg N,
auf 25 g Boden 0,8937 mg	auf 25 g Boden 0,532 mg
oder 0,0036 Proz.	oder 0,00212 Proz.

im Mittel beider Reihen eine Maximaldifferenz von 0,0027 Proz. N. Diese Abweichungen waren erreicht unter so schwierigen Verhältnissen, wie sie durch die Beimengung feingeschnittener, relativ N-reicher, aber spezifisch sehr leichter Wurzelsubstanz zum Boden geschaffen worden waren.

Der Vollständigkeit halber muß angeführt werden, daß Herr Prof. Pfeiffer dem oben besprochenen Analysenmateriale für seine Schlußfolgerungen keinen Wert beigemessen hat. Das angeführte Material behält dadurch aber seinen vollen Wert für den hier in Rede stehenden Gegenstand. Der N-Gehalt des für die obigen Analysen benutzten Bodens schwankt um 0,04 Proz. In seiner eingangs erwähnten Veröffentlichung hat nun Prof. Pfeiffer einen Sandboden untersucht, der einen 7—8-fach geringeren N-Gehalt aufweist. Da es nun eine allgemeine Erfahrung ist, daß die bei N-Bestimmungen beobachteten prozentischen Maximaldifferenzen zwischen Parallelanalysen um so kleiner werden, je niedriger der prozentische N-Gehalt ist, dürfen wir a priori annehmen, daß auch die Abweichungen bei der Untersuchung des armen Sandbodens bedeutend geringer ausfallen werden, und das um so mehr, als keine Beimengung feingeschnittener Wurzeln stattgefunden hat und nicht 25, sondern 50 g Boden pro Analyse verwendet wurden.

Tatsächlich ergaben sich aber die Maximaldifferenzen zu

0,002096 Proz.
0,004268 „
0,002808 „
0,001438 „

im Mittel 0,002752 Proz.

Verglichen mit den oben angeführten Analysen, die unter sehr schwierigen Umständen zur Ausführung kamen, müssen wir diese Abweichungen als ungewöhnlich große bezeichnen. Diese Auffassung muß um so berechtigter erscheinen, wenn wir jenen in Breslau ausgeführten Analysen N-Bestimmungen eines Bodens mit bedeutend höherem N-Gehalte, der im Institute des Herrn Prof. Koch von einem andern Analytiker untersucht wurde, gegenüberstellen. Bei einem mittleren N-Gehalte des Bodens von 0,053 Proz. und Verwendung von 25—30 g pro Analyse, ergaben die Einzelanalysen: 0,0504 Proz.; 0,0502 Proz.; 0,0504 Proz.; 0,0506 Proz.; 0,0504 Proz.; 0,0500 Proz.

Die größte Abweichung zweier Analysen beträgt 0,0006 Proz. oder etwa 0,00015 g pro Analyse.

Daß aber auch bei N-reichern Böden und einer größeren Anzahl von Analysen die Schwankungen der N-Bestimmungen bedeutend geringere sind, als Herr Prof. Pfeiffer in seiner oben genannten Publikation sie erhielt, mögen 15 an einer sehr jungen und somit höchst inhomogenen Komposterde im Jahre 1904 im Institute des Herrn Prof. Koch von einem anderen Analytiker und für einen hier nebensächlichen Zweck ausgeführte Analysen zeigen. Der gesiebte Boden wurde in Mengen von 25 g pro Analyse in lufttrockenem Zustande verwendet. Bei einem mittleren N-Gehalte von 0,2300 Proz. betrugen die größten Abweichungen zwischen zwei Analysen 0,0073 Proz. N. Herr Prof. Pfeiffer und seine Mitarbeiter untersuchten einen Ackerboden mit nahezu dem gleichen

N-Gehalte und führten an dem nicht nur gesiebten, sondern überdies noch gemahlenen Boden (Büttgenbach) unter Anwendung von 20 g pro Analyse je 10 Parallelanalysen aus; deren größten Schwankungen betragen:

	0,02065 Proz.
	0,02310 „
	0,01835 „
	0,01865 „
im Mittel	0,02019 Proz.

Die Abweichungen sind also fast dreimal so groß als die an einer Komposterde in Göttingen erhaltenen.

Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage bieten außer den angeführten Analysenreihen anderer Analytiker meine für die eingangs erwähnten Versuchsreihen ausgeführten N-Bestimmungen. Es betrugen nämlich bei Anwendung von 20 g gesiebtem, lufttrockenem Boden pro Analyse die Maximaldifferenzen zweier Bestimmungen

bei 9	Parallelanalysen	0,0027	Proz.	N
„ 10	„	0,0028	„	„
„ 10	„	0,0031	„	„
„ 10	„	0,0030	„	„
	im Mittel	0,0029	Proz.	

trotzdem ich bei diesen Analysen, abweichend von den in meiner früheren Arbeit veröffentlichten, den mit Säure aufgeschlossenen Boden für die Destillation in einen anderen Kolben überspülen mußte. Ich bin bei dieser Sachlage nicht im stande, der Auffassung des Herrn Prof. Pfeiffer zuzustimmen, daß N-Bestimmungen im Boden durchgehend größere Abweichungen zeigen als ich sie in meiner früheren Arbeit erhielt und daß die für meine Untersuchungen angenommene Fehlergrenze von 0,002 Proz. zu niedrig bemessen sei. Die angeführten Analysenreihen zeigen vielmehr, daß die hier in Göttingen von verschiedenen Analytikern ausgeführten Analysen in ihren Maximaldifferenzen hinter den in Breslau ausgeführten um ein Mehrfaches zurückbleiben und daß die bessere Uebereinstimmung erreicht wurde, ohne den in der Literatur hier und da angedeuteten Weg zu beschreiten: „Von jeder Probe wurden die Analysen sehr oft wiederholt, bis sich mindestens 4 übereinstimmende Resultate zeigten.“

Diese Erörterungen über die Fehlergrenze beziehen sich gleichzeitig auf die Kritik, welche ebenfalls Löhnis[1]) an meiner eingangs genannten Arbeit geübt hat. Löhnis hebt in diesem Zusammenhange weiter hervor, daß nach Tab. 4 meiner eingangs genannten Arbeit ein und derselbe Boden beim Sterilisieren im Trockenschranke das eine Mal durchaus keine Veränderungen im N-Gehalte zeigte, das andere Mal eine Zunahme von 0,012 Proz. Diese Angabe trifft nicht zu. N-Zu- und Abnahmen können nur an der Hand von Jodlbaur-Analysen, die den Gesamt-N erfassen, konstatiert werden. Aus der in Rede stehenden Tabelle geht hervor, daß der Boden vor der Sterilisation 0,1372 Proz. Gesamt-N, nach der Sterilisation 0,1364 Proz., also die gleiche Menge enthielt. Von dieser N-Menge wurden vor der Sterilisation nach Kjeldahl gefunden 0,1236 Proz., nach der Sterilisation 0,1355 Proz., d. h. durch die Sterilisation hatte nicht eine N-Vermehrung, sondern eine Vermehrung der nach Kjeldahl gefundenen Quote des Gesamt-N stattgefunden. In einer Fußnote des Referates macht Löhnis die Bemerkung, daß ich bei gleichzeitig demselben Felde entnommenen Erdproben Schwankungen

1) Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. p. 561—563.

des N-Gehaltes um 0,022 Proz. erhalten hätte. Ich habe nun aber die Proben für die verschiedenen Versuchsreihen kurz vor dem Ansetzen der betr. Reihe dem Felde entnommen. Die Probenahme für die verschiedenen Reihen verteilt sich über einen Zeitraum von mehr als einem Jahre.

Untersuchungen über die Chlorose der Reben.

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 4 Tafeln und 8 Abbildungen im Text.

(Schluß.)

Um zu prüfen, inwieweit die Blattform der widerstandsfähigen Stöcke von derjenigen der chlorotischen abwich, wurden durch einen Arbeiter von den vier ersteren 100 Blätter von allen Teilen des Stockes entnommen, des gleichen von verschiedenen in der Nähe stehenden chlorotischen Stöcken. Diese Blätter wurden einzeln zwischen zwei Glasplatten gepackt, und es wurden dann durch Messung der Entfernungen der Hauptspitzen der Blattlappen voneinander, wie auch von der Basis der Blattspreite (siehe Fig. 5) gewisse Zahlen erhalten, die durch Division der einzelnen Werte e : a, b : a, c : b, d : b wiederum die in den nachstehenden Tabellen verzeichneten Verhältniszahlen ergaben. Außerdem wurde bei diesen Messungen das Verhältnis der Tiefe der Einbuchtung zwischen Mittellappen und Seitenlappen zu der Länge der auf der gleichen Basallinie senkrecht stehenden, nach dem Stielende hinlaufenden Linie festgestellt. Als Basis diente hierbei die Verbindungslinie der Spitzen des Mittel- und ersten Seitenlappens[1]). Wir finden die entsprechenden Zahlen in den Tabellen unter g : f. Da die einzelnen Blatthälften unter sich nicht kongruent sind, so mußten die Messungen auf beide Hälften ausgedehnt werden.

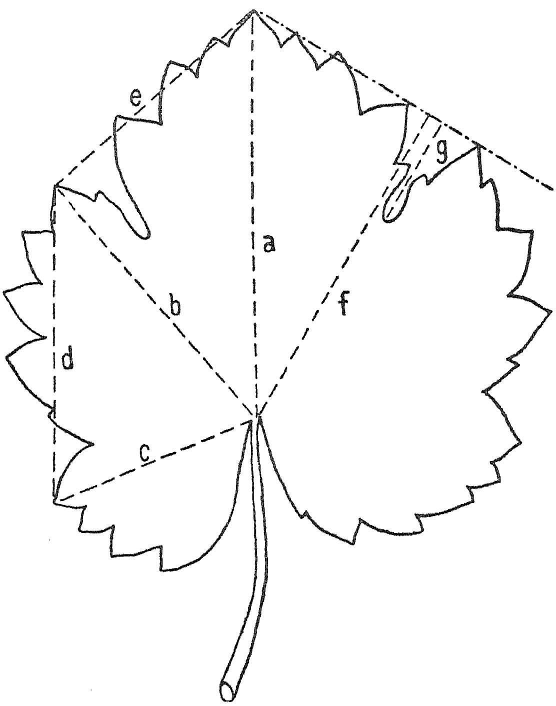


Fig. 5.

---

1) Die letztere Maßnehmung wurde auch von Voss in seiner Arbeit über Pfropfhybridismus angewandt; siehe Landw. Jahrb. 1904. p. 980.

Verhältniszahlen der Messungen der Blätter der **widerstandsfähigen** Sylvanerstöcke aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell" (vorn), Gemarkung Zotzenheim (Rheinhessen).

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
1	3 : 82 = 0,04	105 : 105 = 1,00	92 : 105 = 0,88	73 : 92 = 0,79	83 : 92 = 0,90
	8 : 91 = 0,09	94 : 105 = 0,90	94 : 105 = 0,90	78 : 94 = 0,83	73 : 94 = 0,78
2	9 : 87 = 0,10	88 : 106 = 0,83	93 : 106 = 0,88	74 : 93 = 0,80	85 : 93 = 0,91
	21 : 84 = 0,25	87 : 106 = 0,82	85 : 106 = 0,80	67 : 85 = 0,79	68 : 85 = 0,80
3	18 : 105 = 0,17	117 : 133 = 0,88	108 : 133 = 0,81	85 : 108 = 0,79	95 : 108 = 0,88
	15 : 95 = 0,16	144 : 133 = 1,08	115 : 133 = 0,86	94 : 115 = 0,82	112 : 115 = 0,97
4	5 : 55 = 0,10	47 : 60 = 0,78	60 : 60 = 1,00	38 : 60 = 0,63	52 : 60 = 0,87
	6 : 53 = 0,11	40 : 60 = 0,67	55 : 60 = 0,92	39 : 55 = 0,71	49 : 55 = 0,89
5	15 : 50 = 0,30	44 : 60 = 0,73	52 : 60 = 0,87	—	—
	9 : 50 = 0,18	42 : 60 = 0,70	54 : 60 = 0,90	—	—
6	35 : 77 = 0,45	82 : 92 = 0,89	85 : 92 = 0,92	—	—
	35 : 73 = 0,48	85 : 92 = 0,92	80 : 92 = 0,87	60 : 80 = 0,75	82 : 80 = 1,03
7	17 : 95 = 0,18	123 : 125 = 0,98	107 : 125 = 0,86	85 : 107 = 0,79	93 : 107 = 0,87
	12 : 100 = 0,12	107 : 125 = 0,86	105 : 125 = 0,84	82 : 105 = 0,78	96 : 105 = 0,91
8	25 : 88 = 0,28	115 : 110 = 1,00	99 : 110 = 0,90	85 : 99 = 0,86	92 : 99 = 0,93
	7 : 85 = 0,09	106 : 111 = 0,95	95 : 111 = 0,86	73 : 95 = 0,77	84 : 95 = 0,88
9	10 : 84 = 0,12	98 : 107 = 0,92	92 : 107 = 0,86	70 : 92 = 0,77	68 : 92 = 0,74
	10 : 98 = 0,10	103 : 107 = 0,96	97 : 107 = 0,91	70 : 97 = 0,72	72 : 97 = 0,74
10	8 : 93 = 0,09	120 : 130 = 0,92	100 : 130 = 0,77	75 : 100 = 0,75	80 : 100 = 0,80
	13 : 108 = 0,12	130 : 130 = 1,00	125 : 130 = 0,96	96 : 125 = 0,77	117 : 125 = 0,94
11	19 : 78 = 0,24	69 : 89 = 0,78	84 : 89 = 0,94	60 : 84 = 0,71	72 : 84 = 0,86
	23 : 78 = 0,29	68 : 89 = 0,76	89 : 89 = 1,00	60 : 89 = 0,67	78 : 89 = 0,88
12	7 : 87 = 0,08	103 : 110 = 0,94	94 : 110 = 0,88	74 : 94 = 0,79	83 : 94 = 0,88
	23 : 85 = 0,27	116 : 110 = 1,06	99 : 110 = 0,90	84 : 99 = 0,85	81 : 99 = 0,82
13	20 : 82 = 0,24	61 : 89 = 0,69	88 : 89 = 0,99	58 : 88 = 0,65	78 : 88 = 0,89
	23 : 77 = 0,30	63 : 89 = 0,71	80 : 89 = 0,90	65 : 80 = 0,81	70 : 80 = 0,87
14	9 : 98 = 0,09	109 : 123 = 0,89	105 : 123 = 0,85	82 : 105 = 0,78	86 : 82 = 1,05
	18 : 95 = 0,19	126 : 122 = 1,03	108 : 122 = 0,89	86 : 108 = 0,80	99 : 108 = 0,92
15	10 : 73 = 0,14	52 : 86 = 0,60	75 : 86 = 0,87	56 : 75 = 0,75	74 : 75 = 0,99
	—	62 : 87 = 0,71	82 : 87 = 0,94	62 : 82 = 0,76	71 : 82 = 0,87
16	18 : 90 = 0,20	85 : 112 = 0,76	95 : 112 = 0,85	74 : 95 = 0,78	70 : 95 = 0,74
	8 : 87 = 0,09	95 : 112 = 0,85	90 : 112 = 0,80	70 : 90 = 0,78	67 : 90 = 0,74
17	4 : 65 = 0,06	60 : 75 = 0,80	68 : 75 = 0,91	53 : 68 = 0,78	55 : 68 = 0,81
	—	—	—	—	—
18	5 : 80 = 0,06	102 : 102 = 1,00	95 : 102 = 0,93	78 : 95 = 0,82	100 : 95 = 1,01
	—	—	—	—	—
19	29 : 90 = 0,32	100 : 115 = 0,86	95 : 115 = 0,83	71 : 95 = 0,75	72 : 95 = 0,76
	—	—	—	—	—
20	33 : 100 = 0,33	105 : 130 = 0,81	104 : 130 = 0,80	73 : 104 = 0,70	100 : 104 = 0,96
	26 : 104 = 0,25	90 : 130 = 0,69	105 : 130 = 0,81	80 : 105 = 0,76	90 : 105 = 0,86
21	7 : 105 = 0,07	80 : 124 = 0,65	106 : 124 = 0,85	75 : 106 = 0,71	80 : 106 = 0,75
	30 : 109 = 0,28	105 : 124 = 0,85	120 : 124 = 0,97	90 : 120 = 0,75	91 : 120 = 0,76
22	9 : 62 = 0,15	47 : 68 = 0,69	64 : 68 = 0,94	46 : 64 = 0,72	50 : 64 = 0,78
	4 : 59 = 0,07	55 : 68 = 0,81	65 : 68 = 0,95	47 : 65 = 0,72	53 : 65 = 0,82
23	7 : 70 = 0,10	70 : 80 = 0,88	77 : 80 = 0,96	59 : 77 = 0,77	61 : 77 = 0,79
	7 : 73 = 0,10	64 : 80 = 0,80	77 : 80 = 0,96	50 : 77 = 0,65	63 : 77 = 0,82

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
24	7 : 64 = 0,11	55 : 73 = 0,75	65 : 73 = 0,89	50 : 65 = 0,77	54 : 65 = 0,83
	7 : 60 = 0,12	53 : 73 = 0,73	60 : 73 = 0,82	48 : 60 = 0,80	47 : 60 = 0,78
25	7 : 94 = 0,07	90 : 115 = 0,78	96 : 115 = 0,83	75 : 96 = 0,78	83 : 96 = 0,86
	19 : 95 = 0,20	94 : 115 = 0,82	100 : 115 = 0,87	76 : 100 = 0,76	85 : 100 = 0,85
26	29 : 85 = 0,34	70 : 104 = 0,67	85 : 104 = 0,82	55 : 85 = 0,65	73 : 85 = 0,86
	40 : 95 = 0,42	80 : 101 = 0,79	105 : 101 = 1,04	75 : 105 = 0,71	94 : 105 = 0,90
27	19 : 75 = 0,25	88 : 95 = 0,93	80 : 95 = 0,84	60 : 80 = 0,75	67 : 80 = 0,84
	17 : 76 = 0,22	96 : 96 = 1,00	86 : 96 = 0,89	65 : 86 = 0,76	75 : 86 = 0,87
28	9 : 67 = 0,13	66 : 84 = 0,79	70 : 84 = 0,83	—	—
	12 : 65 = 0,20	72 : 84 = 0,86	68 : 84 = 0,81	50 : 68 = 0,74	55 : 68 = 0,81
29	9 : 103 = 0,09	71 : 125 = 0,57	104 : 125 = 0,83	85 : 104 = 0,82	94 : 104 = 0,90
	—	—	—	—	—
30	15 : 83 = 0,19	85 : 110 = 0,77	93 : 110 = 0,85	67 : 93 = 0,72	75 : 93 = 0,80
	9 : 86 = 0,10	93 : 110 = 0,85	90 : 110 = 0,82	70 : 90 = 0,78	78 : 90 = 0,87
31	36 : 90 = 0,40	114 : 110 = 1,04	112 : 110 = 1,00	80 : 112 = 0,71	94 : 112 = 0,83
	8 : 88 = 0,09	106 : 110 = 0,96	93 : 110 = 0,85	75 : 93 = 0,81	87 : 93 = 0 94
32	11 : 81 = 0,14	76 : 105 = 0,72	82 : 105 = 0,78	60 : 82 = 0,73	70 : 82 = 0,86
	11 : 89 = 0,12	79 : 105 = 0,75	91 : 105 = 0,87	—	—
33	37 : 88 = 0,42	69 : 100 = 0,69	91 : 100 = 0,91	71 : 91 = 0,78	81 : 91 = 0,89
	16 : 83 = 0,19	65 : 100 = 0,65	83 : 100 = 0,83	64 : 83 = 0,77	72 : 83 = 0,87
34	17 : 92 = 0,18	95 : 118 = 0,81	94 : 118 = 0,71	70 : 94 = 0,74	80 : 94 = 0,85
	19 : 94 = 0,20	98 : 118 = 0,83	98 : 118 = 0,83	70 : 98 = 0,71	95 : 98 = 0,97
35	4 : 61 = 0,07	83 : 83 = 1,00	75 : 83 = 0,90	52 : 75 = 0,69	66 : 75 = 0,88
	4 : 67 = 0,06	78 : 83 = 0,94	75 : 83 = 0,90	52 : 75 = 0,69	65 : 75 = 0,86
36	34 : 106 = 0,32	97 : 130 = 0,75	106 : 130 = 0,82	80 : 106 = 0,75	100 : 106 = 0,94
	34 : 109 = 0,31	96 : 130 = 0,74	110 : 130 = 0,85	80 : 110 = 0,73	95 : 110 = 0,86
37	3 : 39 = 0,08	36 : 46 = 0,78	41 : 46 = 0,89	30 : 41 = 0,73	30 : 41 = 0,73
	3 : 39 = 0,08	35 : 46 = 0,76	41 : 46 = 0,89	30 : 41 = 0,73	32 : 41 = 0,78
38	3 : 57 = 0,06	57 : 70 = 0,81	60 : 70 = 0,86	46 : 60 = 0,77	53 : 60 = 0,88
	—	—	—	—	—
39	7 : 113 = 0,06	117 : 140 = 0,84	118 : 140 = 0,84	90 : 118 = 0,76	103 : 118 = 0,87
	14 : 107 = 0,13	123 : 140 = 0,87	110 : 140 = 0,71	91 : 110 = 0,83	95 : 110 = 0,86
40	10 : 90 = 0,11	88 : 120 = 0,73	93 : 120 = 0,86	73 : 93 = 0,79	60 : 93 = 0,65
	42 : 97 = 0,43	105 : 125 = 0,84	101 : 125 = 0,80	80 : 101 = 0,79	93 : 101 = 0,92
41	21 : 92 = 0,23	86 : 119 = 0,72	93 : 119 = 0,78	72 : 93 = 0,77	80 : 93 = 0,85
	—	—	—	—	—
42	4 : 44 = 0,09	41 : 52 = 0,79	47 : 52 = 0,90	28 : 47 = 0,60	42 : 47 = 0,89
	5 : 41 = 0,12	39 : 52 = 0,75	42 : 52 = 0,81	29 : 42 = 0,69	39 : 42 = 0,93
43	9 : 59 = 0,15	53 : 70 = 0,76	62 : 70 = 0,89	45 : 62 = 0,73	52 : 62 = 0,84
	7 : 57 = 0,12	45 : 70 = 0,64	59 : 70 = 0,84	44 : 59 = 0,75	43 : 59 = 0,73
44	7 : 65 = 0,10	69 : 77 = 0,90	70 : 77 = 0,91	53 : 70 = 0,76	59 : 70 = 0,84
	10 : 66 = 0,15	55 : 77 = 0,71	67 : 77 = 0,87	48 : 67 = 0,72	50 : 67 = 0,75
45	6 : 97 = 0,06	102 : 120 = 0,85	103 : 120 = 0,86	83 : 103 = 0,81	103 : 103 = 1,00
	—	—	—	—	—
46	4 : 62 = 0,06	64 : 68 = 0,94	70 : 68 = 1,03	53 : 70 = 0,76	54 : 70 = 0,77
	9 : 61 = 0,15	53 : 68 = 0,78	65 : 68 = 0,96	50 : 65 = 0,77	43 : 65 = 0,66
47	5 : 47 = 0,11	43 : 60 = 0,72	48 : 60 = 0,80	35 : 48 = 0,73	41 : 48 = 0,85
	8 : 52 = 0,12	50 : 60 = 0,83	56 : 60 = 0,93	40 : 56 = 0,71	54 : 56 = 0,96
48	4 : 75 = 0,03	91 : 91 = 1,00	86 : 91 = 0,95	68 : 86 = 0,79	78 : 86 = 0,91
	—	—	—	—	—
49	3 : 38 = 0,08	30 : 45 = 0,67	37 : 45 = 0,82	29 : 37 = 0.78	28 : 37 = 0 76
	3 : 44 = 0,07	[illegible]	[illegible]		

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
50	20 : 94 = 0,21	73 : 110 = 0,66	96 : 110 = 0,87	76 : 96 = 0,78	81 : 96 = 0,84
	29 : 97 = 0,30	80 : 110 = 0,73	101 : 110 = 0,92	70 : 101 = 0,69	85 : 101 = 0,84
51	17 : 75 = 0,23	71 : 85 = 0,84	80 : 85 = 0,94	60 : 80 = 0,75	73 : 80 = 0,91
	18 : 62 = 0,29	60 : 85 = 0,71	64 : 85 = 0,75	50 : 64 = 0,78	57 : 64 = 0,89
52	26 : 98 = 0,27	99 : 115 = 0,86	106 : 115 = 0,92	77 : 106 = 0,73	105 : 106 = 0,99
	20 : 100 = 0,20	80 : 115 = 0,70	102 : 105 = 0,91	68 : 102 = 0,67	87 : 102 = 0,85
53	36 : 78 = 0,46	90 : 92 = 0,98	91 : 92 = 0,99	69 : 91 = 0,76	89 : 91 = 0,98
	35 : 78 = 0,45	73 : 92 = 0,79	84 : 92 = 0,91	64 : 84 = 0,76	69 : 84 = 0,82
54	6 : 84 = 0,07	93 : 102 = 0,91	92 : 102 = 0,90	74 : 92 = 0,80	68 : 92 = 0,74
	11 : 88 = 0,13	95 : 102 = 0,93	96 : 102 = 0,94	78 : 96 = 0,81	81 : 96 = 0,84
55	3 : 62 = 0,05	62 : 72 = 0,86	67 : 72 = 0,93	48 : 67 = 0,72	63 : 67 = 0,94
	4 : 60 = 0,07	46 : 72 = 0,64	63 : 72 = 0,88	47 : 63 = 0,75	50 : 63 = 0,79
56	21 : 90 = 0,23	101 : 112 = 0,90	97 : 112 = 0,87	76 : 97 = 0,78	74 : 97 = 0,76
	20 : 88 = 0,23	118 : 112 = 1,05	102 : 112 = 0,92	74 : 102 = 0,73	81 : 102 = 0,79
57	32 : 88 = 0,36	78 : 110 = 0,70	89 : 110 = 0,81	70 : 89 = 0,79	80 : 89 = 0,91
	26 : 87 = 0,30	85 : 110 = 0,77	88 : 110 = 0,80	70 : 88 = 0,80	51 : 88 = 0,58
58	12 : 74 = 0,16	87 : 94 = 0,93	80 : 94 = 0,85	65 : 80 = 0,81	65 : 80 = 0,81
	27 : 74 = 0,36	85 : 94 = 0,90	78 : 94 = 0,83	62 : 78 = 0,79	64 : 78 = 0,82
59	6 : 52 = 0,12	48 : 60 = 0,80	54 : 60 = 0,90	42 : 54 = 0,78	44 : 54 = 0,81
	7 : 55 = 0,13	40 : 60 = 0,67	57 : 60 = 0,95	37 : 57 = 0,65	48 : 57 = 0,84
60	10 : 83 = 0,12	80 : 99 = 0 81	85 : 99 = 0,86	65 : 85 = 0,76	72 : 85 = 0,85
	26 : 83 = 0,31	95 : 99 = 0,96	94 : 99 = 0,95	66 : 94 = 0,70	82 : 94 = 0,87
61	9 : 81 = 0,11	97 : 100 = 0,97	88 : 100 = 0.80	—	—
	37 : 85 = 0,44	100 : 100 = 1,00	95 : 100 = 0,95	—	—
62	7 : 94 = 0,07	115 : 128 = 0,89	105 : 128 = 0,82	—	—
	7 : 105 = 0,06	130 : 128 = 1,02	122 : 128 = 0,95	92 : 122 = 0,75	113 : 122 = 0,93
63	31 : 97 = 0,32	119 : 123 = 0,97	115 : 123 = 0,93	77 : 115 = 0,67	99 : 115 = 0,86
	37 : 94 = 0,39	134 : 123 = 1,09	108 : 123 = 0,87	89 : 108 = 0,82	105 : 108 = 0,97
64	12 : 80 = 0,15	81 : 100 = 0,81	83 : 100 = 0,83	65 : 83 = 0,78	75 : 83 = 0,90
	10 : 78 = 0,13	81 : 100 = 0,81	80 : 100 = 0,80	60 : 80 = 0,75	73 : 80 = 0,91
65	28 : 87 = 0,32	116 : 116 = 1,00	96 : 116 = 0,83	79 : 96 = 0,82	75 : 96 = 0,78
	—	—	—	—	—
66	21 : 78 = 0,27	50 : 84 = 0,60	80 : 84 = 0,95	60 : 80 = 0,75	71 : 80 = 0,89
	15 : 68 = 0,22	57 : 84 = 0,68	80 : 84 = 0,95	60 : 80 = 0,75	70 : 80 = 0,88
67	10 : 68 = 0,15	56 : 79 = 0,71	71 : 79 = 0,90	58 : 71 = 0,82	58 : 71 = 0,82
	4 : 72 = 0,06	62 : 79 = 0,78	80 : 79 = 1,01	—	—
68	5 : 90 = 0,06	112 : 113 = 0,99	101 : 113 = 0,89	76 : 101 = 0,75	96 : 101 = 0,95
	6 : 84 = 0,07	99 : 115 = 0,81	90 : 115 = 0,78	—	—
69	17 : 103 = 0,17	115 : 133 = 0,87	110 : 133 = 0,83	88 : 110 = 0,80	113 : 110 = 1,03
	3 : 104 = 0,03	113 : 133 = 0,85	108 : 133 = 0,81	85 : 108 = 0,79	112 : 108 = 1,04
70	11 : 84 = 0,13	84 : 100 = 0,84	88 : 100 = 0,88	—	—
	29 : 82 = 0,35	97 : 100 = 0,97	92 : 100 = 0,92	—	—
71	8 : 80 = 0,10	85 : 100 = 0,85	84 : 100 = 0,84	62 : 84 = 0,74	67 : 84 = 0,80
	7 : 73 = 0,10	92 : 100 = 0,92	90 : 100 = 0,90	63 : 90 = 0,70	81 : 90 = 0,90
72	3 : 56 = 0,05	58 : 65 = 0,89	60 : 65 = 0,90	43 : 60 = 0,72	52 : 60 = 0,87
	7 : 57 = 0,12	52 : 65 = 0,80	62 : 65 = 0,95	42 : 62 = 0,68	52 : 62 = 0,84
73	20 : 88 = 0,23	90 : 110 = 0,82	90 : 110 = 0,82	72 : 90 = 0,80	88 : 90 = 0,98
	10 : 90 = 0,11	87 : 110 = 0,79	93 : 110 = 0,85	72 : 93 = 0,77	73 : 93 = 0,78
74	25 : 70 = 0,36	78 : 95 = 0,82	71 : 95 = 0,75	57 : 71 = 0,80	55 : 71 = 0,77
	—	—	—	—	—
75	27 : 78 = 0,35	84 : 99 = 0,85	83 : 99 = 0,84	67 : 83 = 0,81	75 : 83 = 0,90

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
76	6 : 56 = 0,11 —	56 : 65 = 0,86 41 : 65 = 0,63	61 : 65 = 0,94 59 : 65 = 0,91	47 : 61 = 0,77 45 : 59 = 0,76	55 : 61 = 0,90 50 : 59 = 0,85
77	28 : 97 = 0,29 2 : 92 = 0,02	122 : 120 = 1,02 133 : 120 = 1,10	108 : 120 = 0,90 110 : 120 = 0,92	85 : 108 = 0,79 89 : 110 = 0,81	102 : 108 = 0,94 90 : 110 = 0,82
78	8 : 72 = 0,11 —	85 : 95 = 0,89 —	75 : 95 = 0,79 76 : 95 = 0,80	60 : 75 = 0,80 61 : 76 = 0,80	59 : 75 = 0,79 59 : 76 = 0,78
79	13 : 60 = 0,22 —	58 : 67 = 0,87 52 : 67 = 0,78	68 : 67 = 1,01 63 : 67 = 0,94	50 : 68 = 0,74 47 : 63 = 0,75	60 : 68 = 0,85 61 : 63 = 0,97
80	25 : 84 = 0,30 19 : 85 = 0,21	61 : 99 = 0,62 67 : 99 = 0,68	85 : 99 = 0,86 87 : 99 = 0,88	68 : 85 = 0,80 —	65 : 85 = 0,76 —
81	12 : 75 = 0,16 28 : 80 = 0,36	60 : 90 = 0,67 60 : 90 = 0,67	78 : 90 = 0,87 79 : 90 = 0,88	59 : 78 = 0,76 65 : 79 = 0,82	58 : 78 = 0,74 57 : 79 = 0,72
82	38 : 108 = 0,35 30 : 102 = 0,29	91 : 122 = 0,75 93 : 122 = 0,76	115 : 122 = 0,94 106 : 122 = 0,88	83 : 115 = 0,72 79 : 106 = 0,75	97 : 115 = 0,84 92 : 106 = 0,87
83	10 : 46 = 0,22 5 : 45 = 0,11	40 : 50 = 0,80 34 : 50 = 0,68	49 : 50 = 0,96 47 : 50 = 0,94	32 : 49 = 0,65 31 : 47 = 0,66	41 : 49 = 0,84 43 : 47 = 0,91
84	18 : 80 = 0,23 —	96 : 96 = 1,00 —	92 : 96 = 0,96 —	70 : 92 = 0,76 —	90 : 92 = 0,98 —
85	31 : 86 = 0,36 44 : 94 = 0,47	75 : 107 = 0,70 83 : 107 = 0,78	88 : 107 = 0,82 97 : 107 = 0,91	68 : 88 = 0,77 70 : 97 = 0,72	80 : 88 = 0,90 83 : 97 = 0,86
86	17 : 80 = 0,21 —	71 : 97 = 0,73 —	83 : 97 = 0,86 —	62 : 83 = 0,75 —	60 : 83 = 0,72 —
87	4 : 48 = 0,08 6 : 51 = 0,12	41 : 60 = 0,68 47 : 60 = 0,78	50 : 60 = 0,83 53 : 60 = 0,88	36 : 50 = 0,72 40 : 53 = 0,75	41 : 50 = 0,82 40 : 53 = 0,75
88	11 : 106 = 0,10 11 : 100 = 0,11	116 : 131 = 0,89 112 : 131 = 0,85	116 : 131 = 0,88 105 : 131 = 0,85	87 : 116 = 0,75 83 : 105 = 0,79	95 : 116 = 0,82 97 : 105 = 0,92
89	14 : 60 = 0,23 9 : 65 = 0,14	64 : 77 = 0,83 67 : 77 = 0,87	64 : 77 = 0,83 70 : 77 = 0,91	49 : 67 = 0,73 52 : 70 = 0,74	41 : 67 = 0,61 57 : 70 = 0,81
90	9 : 68 = 0,13 5 : 70 = 0,07	67 : 80 = 0,84 69 : 80 = 0,86	73 : 80 = 0,91 75 : 80 = 0,94	50 : 73 = 0,68 55 : 75 = 0,73	55 : 73 = 0,75 65 : 75 = 0,87
91	2 : 41 = 0,05 5 : 38 = 0,13	41 : 46 = 0,85 35 : 46 = 0,76	47 : 46 = 1,02 40 : 46 = 0,83	35 : 47 = 0,74 27 : 40 = 0,67	37 : 47 = 0,79 32 : 40 = 0,80
92	10 : 77 = 0,13 13 : 77 = 0,17	71 : 95 = 0,75 75 : 95 = 0,79	81 : 95 = 0,85 82 : 95 = 0,86	63 : 81 = 0,78 63 : 82 = 0,77	70 : 81 = 0,86 62 : 82 = 0,76
93	27 : 76 = 0,36 9 : 74 = 0,12	86 : 98 = 0,88 95 : 98 = 0,97	82 : 98 = 0,84 91 : 98 = 0,83	63 : 82 = 0,77 65 : 81 = 0,80	74 : 82 = 0,90 78 : 81 = 0,96
94	9 : 64 = 0,14 6 : 66 = 0,09	60 : 74 = 0,81 60 : 74 = 0,81	68 : 74 = 0,92 71 : 74 = 0,96	53 : 68 = 0,78 51 : 71 = 0,72	59 : 68 = 0,87 61 : 71 = 0,86
95	6 : 51 = 0,12 5 : 50 = 0,10	43 : 60 = 0,72 50 : 60 = 0,83	53 : 60 = 0,88 52 : 60 = 0,87	38 : 53 = 0,72 41 : 52 = 0,79	45 : 53 = 0,85 46 : 52 = 0,88
96	2 : 49 = 0,04 5 : 50 = 0,10	54 : 67 = 0,81 57 : 67 = 0,85	53 : 67 = 0,79 54 : 67 = 0,81	42 : 53 = 0,79 42 : 54 = 0,78	44 : 53 = 0,83 45 : 54 = 0,83
97	17 : 47 = 0,36 —	55 : 57 = 0,96 —	50 : 57 = 0,88 —	45 : 50 = 0,90 —	41 : 50 = 0,82 —
98	38 : 78 = 0,49 25 : 78 = 0,32	89 : 94 = 0,95 90 : 94 = 0,96	84 : 94 = 0,89 90 : 94 = 0,96	61 : 84 = 0,73 71 : 90 = 0,79	69 : 84 = 0,82 80 : 90 = 0,89
99	5 : 59 = 0,08 5 : 58 = 0,09	54 : 70 = 0,77 59 : 70 = 0,84	61 : 70 = 0,87 61 : 70 = 0,87	45 : 61 = 0,74 47 : 61 = 0,77	57 : 61 = 0,93 52 : 61 = 0,85
100	27 : 85 = 0,32 15 : 80 = 0,19	105 : 105 = 1,00 92 : 105 = 0,88	93 : 105 = 0,88 93 : 105 = 0,89	76 : 93 = 0,82 76 : 93 = 0,82	85 : 93 = 0,91 85 : 93 = 0,91

Verhältniszahlen der Messungen von Blättern **chlorotischer** Sylvanerstöcke aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell“ (vorn), Gemarkung Zotzenheim.

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
1	9 : 75 = 0,12	84 : 95 = 0,88	79 : 95 = 0,83	63 : 79 = 0,80	65 : 79 = 0,82
	17 : 80 = 0,21	85 : 95 = 0,89	85 : 95 = 0,89	65 : 85 = 0,76	62 : 85 = 0,73
2	19 : 55 = 0,35	60 : 70 = 0,86	58 : 70 = 0,83	46 : 58 = 0,79	43 : 58 = 0,74
	—	—	—	—	—
3	11 : 71 = 0,15	78 : 85 = 0,92	78 : 85 = 0,92	64 : 78 = 0,82	60 : 78 = 0,77
	5 : 60 = 0,08	79 : 85 = 0,93	60 : 85 = 0,71	50 : 60 = 0,83	70 : 60 = 1,17
4	9 : 50 = 0,18	47 : 58 = 0,81	51 : 58 = 0,88	40 : 51 = 0,78	37 : 51 = 0,73
	11 : 47 = 0,23	37 : 58 = 0,64	47 : 58 = 0,81	—	—
5	14 : 60 = 0,23	51 : 69 = 0,74	59 : 69 = 0,86	50 : 59 = 0,85	46 : 59 = 0,78
	—	54 : 69 = 0,78	61 : 69 = 0,88	48 : 61 = 0,79	47 : 61 = 0,77
6	22 : 64 = 0,34	67 : 75 = 0,89	70 : 75 = 0,93	48 : 70 = 0,69	59 : 70 = 0,84
	31 : 64 = 0,48	60 : 75 = 0,80	67 : 75 = 0,89	49 : 67 = 0,73	56 : 67 = 0,84
7	29 : 75 = 0,39	107 : 107 = 1,00	82 : 107 = 0,77	58 : 82 = 0,71	72 : 82 = 0,88
	25 : 74 = 0,34	120 : 107 = 1,12	93 : 107 = 0,87	55 : 93 = 0,59	96 : 93 = 1,03
8	41 : 84 = 0,49	89 : 95 = 0,94	93 : 95 = 0,98	73 : 93 = 0,78	77 : 93 = 0,83
	37 : 78 = 0,47	87 : 95 = 0,92	84 : 95 = 0,88	65 : 84 = 0,77	68 : 84 = 0,81
9	9 : 62 = 0,15	73 : 80 = 0,91	66 : 80 = 0,83	51 : 66 = 0,77	52 : 66 = 0,79
	4 : 57 = 0,07	64 : 79 = 0,81	59 : 79 = 0,75	—	—
10	32 : 68 = 0,47	69 : 84 = 0,82	71 : 84 = 0,85	49 : 71 = 0,69	55 : 71 = 0,77
	29 : 66 = 0,44	62 : 84 = 0,74	67 : 84 = 0,80	46 : 67 = 0,69	55 : 67 = 0,82
11	28 : 60 = 0,47	60 : 75 = 0,80	61 : 75 = 0,81	45 : 61 = 0,74	52 : 60 = 0,85
	35 : 64 = 0,55	56 : 75 = 0,75	65 : 75 = 0,87	44 : 65 = 0,68	54 : 65 = 0,83
12	30 : 59 = 0,51	59 : 69 = 0,86	64 : 69 = 0,93	45 : 64 = 0,70	39 : 64 = 0,61
	7 : 54 = 0,13	59 : 69 = 0,86	57 : 69 = 0,83	42 : 57 = 0,74	50 : 57 = 0,88
13	7 : 57 = 0,12	61 : 73 = 0,84	60 : 73 = 0,82	45 : 60 = 0,75	50 : 60 = 0,83
	10 : 55 = 0,18	60 : 73 = 0,82	55 : 73 = 0,75	44 : 55 = 0,80	40 : 55 = 0,73
14	22 : 47 = 0,47	35 : 55 = 0,64	50 : 55 = 0,91	34 : 50 = 0,68	42 : 50 = 0,84
	5 : 45 = 0,11	35 : 55 = 0,64	47 : 55 = 0,85	30 : 47 = 0,64	38 : 47 = 0,81
15	16 : 44 = 0,36	50 : 55 = 0,91	48 : 55 = 0,87	—	—
	20 : 41 = 0,49	47 : 55 = 0,85	50 : 55 = 0,91	35 : 50 = 0,70	42 : 50 = 0,84
16	8 : 71 = 0,11	80 : 93 = 0,86	73 : 93 = 0,78	57 : 73 = 0,78	59 : 73 = 0,81
	18 : 73 = 0,25	79 : 93 = 0,85	76 : 93 = 0,82	56 : 76 = 0,74	69 : 76 = 0,91
17	17 : 49 = 0,35	60 : 61 = 0,98	55 : 61 = 0,90	40 : 55 = 0,73	45 : 55 = 0,82
	20 : 45 = 0,44	47 : 61 = 0,77	47 : 61 = 0,77	33 : 47 = 0,70	37 : 47 = 0,79
18	48 : 84 = 0,57	85 : 94 = 0,90	92 : 94 = 0,98	63 : 92 = 0,68	82 : 92 = 0,89
	42 : 80 = 0,53	78 : 94 = 0,83	85 : 94 = 0,90	73 : 85 = 0,86	60 : 85 = 0,71
19	51 : 102 = 0,50	109 : 127 = 0,86	108 : 127 = 0,85	75 : 108 = 0,69	95 : 108 = 0,88
	40 : 104 = 0,38	110 : 127 = 0,87	112 : 127 = 0,88	76 : 112 = 0,68	103 : 112 = 0,92
20	19 : 75 = 0,25	71 : 92 = 0,77	79 : 92 = 0,86	65 : 79 = 0,82	57 : 79 = 0,72
	24 : 70 = 0,34	90 : 92 = 0,98	75 : 92 = 0,82	63 : 75 = 0.84	64 : 75 = 0,85
21	10 : 64 = 0,16	88 : 80 = 1,01	75 : 88 = 0,85	55 : 75 = 0,73	64 : 75 = 0,85
	—	—	—	—	—
22	—	59 : 72 = 0,82	62 : 72 = 0,86	47 : 62 = 0,76	43 : 62 = 0,69
	—	50 : 72 = 0,69	61 : 72 = 0,85	45 : 66 = 0,68	55 : 61 = 0,90
23	20 : 59 = 0,34	42 : 67 = 0,63	60 : 67 = 0,90	—	—
	26 : 59 = 0,44	56 : 67 = 0,84	65 : 67 = 0,97	50 : 65 = 0,77	58 : 65 = 0,89

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
24	6 : 45 = 0,13	48 : 47 = 1,02	52 : 47 = 1,11	38 : 52 = 0,73	44 : 52 = 0,85
	5 : 41 = 0,12	40 : 47 = 0,85	44 : 47 = 0,94	35 : 44 = 0,80	37 : 44 = 0,84
25	29 : 70 = 0,41	75 : 92 = 0,82	73 : 92 = 0,79	52 : 73 = 0,71	55 : 73 = 0,75
	33 : 71 = 0,46	85 : 92 = 0,92	76 : 92 = 0,83	61 : 76 = 0,80	65 : 76 = 0,86
26	18 : 53 = 0,34	62 : 68 = 0,91	57 : 68 = 0,84	41 : 57 = 0,72	50 : 57 = 0,88
	18 : 55 = 0,33	60 : 68 = 0,88	59 : 68 = 0,87	41 : 59 = 0,69	45 : 59 = 0,76
27	25 : 57 = 0,44	64 : 70 = 0,91	63 : 70 = 0,90	—	—
	15 : 60 = 0,25	62 : 70 = 0,89	65 : 70 = 0,93	50 : 65 = 0,77	41 : 65 = 0,63
28	13 : 61 = 0,21	85 : 89 = 0,96	69 : 89 = 0,78	55 : 69 = 0,80	55 : 69 = 0,80
	24 : 68 = 0,35	92 : 89 = 1,03	75 : 89 = 0,84	54 : 75 = 0,72	70 : 75 = 0,93
29	5 : 74 = 0,07	97 : 100 = 0,97	80 : 100 = 0,80	55 : 80 = 0,69	68 : 80 = 0,85
	—	—	—	—	—
30	7 : 50 = 0,14	39 : 55 = 0,71	52 : 55 = 0,95	34 : 52 = 0,67	44 : 52 = 0,85
	4 : 45 = 0,09	36 : 55 = 0,65	45 : 55 = 0,82	30 : 45 = 0,67	38 : 45 = 0,84
31	13 : 50 = 0,26	50 : 60 = 0,83	51 : 60 = 0,85	39 : 51 = 0,76	45 : 51 = 0,88
	23 : 53 = 0,43	58 : 60 = 0,97	59 : 60 = 0,98	43 : 59 = 0,73	46 : 59 = 0,78
32	7 : 60 = 0,12	60 : 78 = 0,77	63 : 78 = 0,81	45 : 63 = 0,71	52 : 63 = 0,81
	7 : 64 = 0,11	65 : 78 = 0,83	65 : 78 = 0,83	42 : 65 = 0,65	55 : 65 = 0,85
33	27 : 69 = 0,39	78 : 78 = 1,00	74 : 78 = 0,95	58 : 74 = 0,78	62 : 74 = 0,84
	29 : 65 = 0,45	82 : 78 = 0,92	70 : 78 = 0,90	46 : 70 = 0,66	65 : 70 = 0,93
34	7 : 78 = 0,09	90 : 100 = 0,90	83 : 100 = 0,83	62 : 83 = 0,75	65 : 83 = 0,78
	12 : 76 = 0,16	104 : 100 = 1,04	88 : 100 = 0,88	66 : 88 = 0,75	68 : 88 = 0,77
35	11 : 38 = 0,29	32 : 45 = 0,71	39 : 45 = 0,87	—	—
	12 : 29 = 0,41	27 : 45 = 0,60	34 : 45 = 0,76	25 : 34 = 0,47	24 : 34 = 0,71
36	15 : 61 = 0,25	64 : 72 = 0,89	65 : 72 = 0,91	45 : 65 = 0,69	45 : 65 = 0,69
	21 : 60 = 0,35	62 : 72 = 0,86	65 : 72 = 0,90	52 : 65 = 0,80	51 : 65 = 0,78
37	8 : 62 = 0,13	57 : 72 = 0,79	64 : 72 = 0,89	43 : 64 = 0,67	51 : 64 = 0,80
	28 : 62 = 0,45	60 : 72 = 0,83	66 : 72 = 0,92	50 : 66 = 0,76	62 : 66 = 0,94
38	39 : 82 = 0,48	70 : 98 = 0,71	84 : 98 = 0,86	58 : 84 = 0,69	65 : 84 = 0,77
	38 : 85 = 0,45	69 : 98 = 0,70	86 : 98 = 0,88	57 : 86 = 0,66	72 : 86 = 0,84
39	29 : 70 = 0,41	60 : 85 = 0,71	71 : 85 = 0,84	48 : 71 = 0,68	50 : 71 = 0,70
	33 : 64 = 0,52	62 : 85 = 0,73	65 : 85 = 0,78	40 : 65 = 0,62	43 : 65 = 0,66
40	11 : 64 = 0,17	62 : 84 = 0,74	65 : 84 = 0,77	—	—
	12 : 61 = 0,20	62 : 84 = 0,74	62 : 84 = 0,74	45 : 62 = 0,73	49 : 62 = 0,79
41	32 : 62 = 0,52	61 : 79 = 0,77	63 : 79 = 0,80	48 : 63 = 0,76	55 : 63 = 0,87
	26 : 64 = 0,41	70 : 79 = 0,89	67 : 79 = 0,85	55 : 67 = 0,82	56 : 67 = 0,84
42	18 : 55 = 0,33	70 : 68 = 1,03	63 : 68 = 0,93	47 : 63 = 0,75	47 : 63 = 0,75
	7 : 54 = 0,13	63 : 68 = 0,93	56 : 68 = 0,82	42 : 56 = 0,75	46 : 56 = 0,82
43	26 : 59 = 0,44	56 : 78 = 0,72	60 : 78 = 0,77	49 : 60 = 0,82	45 : 60 = 0,75
	36 : 68 = 0,53	50 : 78 = 0,64	68 : 78 = 0,87	49 : 68 = 0,72	56 : 68 = 0,82
44	17 : 77 = 0,22	100 : 95 = 1,05	90 : 95 = 0,95	68 : 90 = 0,76	90 : 90 = 1,00
	12 : 74 = 0,16	86 : 95 = 0,91	80 : 95 = 0,84	60 : 80 = 0,75	70 : 80 = 0,88
45	10 : 63 = 0,16	70 : 81 = 0,86	70 : 81 = 0,86	—	—
	12 : 67 = 0,18	69 : 81 = 0,85	70 : 81 = 0,86	52 : 70 = 0,74	48 : 70 = 0,69
46	29 : 80 = 0,36	91 : 101 = 0,90	85 : 101 = 0,84	64 : 85 = 0,75	74 : 85 = 0,87
	17 : 88 = 0,20	88 : 101 = 0,87	95 : 101 = 0,94	75 : 95 = 0,79	82 : 95 = 0,86
47	11 : 70 = 0,16	87 : 92 = 0,95	76 : 92 = 0,83	59 : 76 = 0,78	66 : 76 = 0,87
	11 : 68 = 0,16	68 : 92 = 0,74	68 : 92 = 0,74	55 : 68 = 0,81	48 : 68 = 0,71
48	11 : 70 = 0,16	83 : 85 = 0,98	76 : 85 = 0,89	50 : 76 = 0,66	57 : 76 = 0,75
	13 : 70 = 0,19	79 : 85 = 0,93	76 : 85 = 0,89	55 : 76 = 0,72	67 : 76 = 0,88
49	12 : 79 = 0,15	84 : 96 = 0,87	85 : 96 = 0,89	57 : 85 = 0,67	62 : 85 = 0,73

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	c : b	d : b
50	31 : 63 = 0,49 31 : 61 = 0,51	67 : 82 = 0,82 64 : 82 = 0,78	64 : 82 = 0,78 60 : 82 = 0,73	46 : 64 = 0,72 39 : 60 = 0,65	52 : 64 = 0,81 55 : 60 = 0,92
51	27 : 58 = 0,47 —	62 : 72 = 0,86 —	61 : 72 = 0,85 —	— —	— —
52	32 : 63 = 0,51 33 : 65 = 0,51	64 : 77 = 0,83 63 : 77 = 0,82	64 : 77 = 0,83 68 : 77 = 0,88	— —	— —
53	29 : 85 = 0,34 23 : 81 = 0,28	85 : 100 = 0,85 79 : 100 = 0,79	90 : 100 = 0,90 85 : 100 = 0,85	70 : 90 = 0,78 60 : 85 = 0,71	95 : 90 = 1,06 70 : 85 = 0,82
54	14 : 68 = 0,21 21 : 64 = 0,33	65 : 83 = 0,78 81 : 83 = 0,98	70 : 83 = 0,84 68 : 83 = 0,82	54 : 70 = 0,77 50 : 68 = 0,74	61 : 70 = 0,87 49 : 68 = 0,72
55	22 : 59 = 0,37 24 : 59 = 0,41	58 : 70 = 0,83 66 : 70 = 0,94	63 : 70 = 0,90 65 : 70 = 0,93	48 : 63 = 0,76 51 : 65 = 0,78	46 : 63 = 0,73 48 : 65 = 0,74
56	3 : 37 = 0,08 5 : 41 = 0,12	36 : 47 = 0,77 43 : 47 = 0,91	39 : 47 = 0,83 45 : 47 = 0,96	30 : 39 = 0,77 29 : 45 = 0,64	28 : 39 = 0,72 40 : 45 = 0,89
57	21 : 47 = 0,45 16 : 46 = 0,35	49 : 55 = 0,89 43 : 55 = 0,78	54 : 55 = 0,98 50 : 55 = 0,91	36 : 54 = 0,69 36 : 50 = 0,72	43 : 54 = 0,80 39 : 50 = 0,78
58	9 : 58 = 0,16 7 : 59 = 0,12	64 : 71 = 0,90 59 : 71 = 0,83	62 : 71 = 0,87 60 : 71 = 0,85	49 : 62 = 0,79 45 : 60 = 0,75	52 : 62 = 0,84 45 : 60 = 0,75
59	6 : 42 = 0,14 13 : 44 = 0,30	36 : 50 = 0,72 43 : 50 = 0,86	42 : 50 = 0,84 42 : 50 = 0,84	29 : 42 = 0,69 28 : 42 = 0,67	34 : 42 = 0,81 45 : 42 = 1,07
60	22 : 54 = 0,41 11 : 48 = 0,23	51 : 60 = 0,85 51 : 60 = 0,85	56 : 60 = 0,93 50 : 60 = 0,83	42 : 56 = 0,75 —	39 : 56 = 0,70 —
61	41 : 85 = 0,48 34 : 85 = 0,40	69 : 103 = 0,60 76 : 103 = 0,74	85 : 103 = 0,83 84 : 103 = 0,82	68 : 85 = 0,80 60 : 84 = 0,71	77 : 85 = 0,91 75 : 84 = 0,89
62	32 : 74 = 0,43 21 : 73 = 0,29	82 : 95 = 0,86 81 : 95 = 0,85	79 : 95 = 0,83 77 : 95 = 0,81	64 : 79 = 0,81 57 : 77 = 0,74	63 : 79 = 0,80 58 : 77 = 0,75
63	34 : 75 = 0,45 19 : 70 = 0,27	87 : 95 = 0,92 87 : 95 = 0,92	85 : 95 = 0,89 77 : 95 = 0,81	— 60 : 77 = 0,78	— —
64	24 : 72 = 0,33 31 : 74 = 0,43	82 : 90 = 0,91 81 : 90 = 0,90	77 : 90 = 0,85 78 : 90 = 0,87	60 : 77 = 0,78 —	61 : 77 = 0,79 —
65	26 : 62 = 0,50 27 : 70 = 0,39	54 : 80 = 0,68 55 : 80 = 0,69	62 : 80 = 0,78 73 : 80 = 0,91	49 : 62 = 0,79 55 : 73 = 0,75	42 : 62 = 0,68 64 : 73 = 0,88
66	21 : 76 = 0,28 15 : 76 = 0,20	92 : 100 = 0,92 84 : 100 = 0,84	85 : 100 = 0,85 80 : 100 = 0,80	60 : 85 = 0,71 63 : 80 = 0,79	67 : 85 = 0,79 56 : 80 = 0,70
67	7 : 53 = 0,13 9 : 53 = 0,17	55 : 63 = 0,87 57 : 63 = 0,90	56 : 63 = 0,89 64 : 63 = 1,16	40 : 56 = 0,72 42 : 64 = 0,66	45 : 56 = 0,80 46 : 64 = 0,72
68	43 : 76 = 0,57 49 : 75 = 0,65	67 : 90 = 0,74 75 : 90 = 0,83	78 : 90 = 0,87 80 : 90 = 0,89	56 : 78 = 0,72 53 : 80 = 0,66	66 : 78 = 0,85 62 : 80 = 0,78
69	26 : 60 = 0,43 29 : 60 = 0,48	62 : 80 = 0,78 70 : 80 = 0,88	62 : 80 = 0,78 65 : 80 = 0,81	43 : 62 = 0,69 46 : 65 = 0,71	56 : 62 = 0,90 56 : 65 = 0,86
70	16 : 77 = 0,21 31 : 76 = 0,41	85 : 91 = 0,93 65 : 91 = 0,71	86 : 91 = 0,95 75 : 91 = 0,82	65 : 86 = 0,75 55 : 75 = 0,73	68 : 86 = 0,79 60 : 75 = 0,80
71	27 : 65 = 0,42 10 : 63 = 0,16	65 : 82 = 0,73 63 : 82 = 0,77	67 : 82 = 0,82 64 : 82 = 0,78	— 48 : 64 = 0,75	— 50 : 64 = 0,78
72	32 : 71 = 0,45 26 : 62 = 0,42	85 : 88 = 0,97 80 : 88 = 0,91	80 : 88 = 0,91 70 : 88 = 0,80	60 : 80 = 0,75 —	75 : 80 = 0,94 —
73	13 : 67 = 0,19 26 : 67 = 0,39	96 : 85 = 1,13 87 : 85 = 1,02	79 : 85 = 0,93 76 : 85 = 0,90	60 : 79 = 0,76 58 : 76 = 0,76	64 : 79 = 0,81 60 : 76 = 0,79
74	7 : 63 = 0,11 9 : 60 = 0,15	64 : 75 = 0,85 80 : 75 = 1,07	67 : 75 = 0,89 67 : 75 = 0,89	47 : 67 = 0,70 48 : 67 = 0,72	57 : 67 = 0,85 60 : 67 = 0,90
75	35 : 83 = 0,42	87 : 100 = 0,87	87 : 100 = 0,87	65 : 87 = 0,75	75 : 87 = 0,86

Lfd. No. des Blattes	g : f	e : a	b : a	e : b	d : b
76	7 : 63 = 0,11	80 : 77 = 1,04	75 : 77 = 0,97	60 : 75 = 0,80	50 : 75 = 0,67
	—	—	—	—	—
77	23 : 61 = 0,38	70 : 80 = 0,87	66 : 80 = 0,83	45 : 66 = 0,68	48 : 66 = 0,73
	11 : 62 = 0,18	66 : 80 = 0,83	65 : 80 = 0,81	42 : 65 = 0,65	52 : 65 = 0,80
78	19 : 59 = 0,32	60 : 73 = 0,82	62 : 73 = 0,85	46 : 62 = 0,74	53 : 62 = 0,85
	7 : 57 = 0,12	56 : 73 = 0,77	57 : 73 = 0,78	41 : 57 = 0,72	41 : 57 = 0,72
79	17 : 52 = 0,33	58 : 70 = 0,83	60 : 70 = 0,86	—	—
	—	64 : 70 = 0,91	62 : 70 = 0,89	41 : 62 = 0,66	53 : 62 = 0,85
80	17 : 54 = 0,31	48 : 69 = 0,69	51 : 69 = 0,74	38 : 51 = 0,75	46 : 51 = 0,90
	17 : 59 = 0,29	50 : 69 = 0,72	60 : 69 = 0,87	43 : 60 = 0,72	46 : 60 = 0,77
81	10 : 50 = 0,20	47 : 60 = 0,78	52 : 60 = 0,87	36 : 52 = 0,69	36 : 52 = 0,69
	7 : 47 = 0,15	48 : 60 = 0,80	48 : 60 = 0,80	40 : 48 = 0,83	31 : 48 = 0,65
82	24 : 65 = 0,37	86 : 90 = 0,96	68 : 90 = 0,76	44 : 68 = 0,65	63 : 68 = 0,93
	—	—	—	—	—
83	27 : 78 = 0,35	94 : 95 = 0,99	88 : 95 = 0,93	64 : 88 = 0,73	80 : 88 = 0,91
	21 : 72 = 0,29	82 : 95 = 0,86	75 : 95 = 0,79	—	—
84	2 : 60 = 0,03	75 : 75 = 1,00	68 : 75 = 0,91	52 : 68 = 0,76	64 : 68 = 0,94
	—	—	—	—	—
85	9 : 74 = 0,12	75 : 87 = 0,86	77 : 87 = 0,89	60 : 77 = 0,78	55 : 77 = 0,71
	10 : 71 = 0,14	84 : 87 = 0,97	80 : 87 = 0,92	61 : 80 = 0,76	65 : 80 = 0,81
86	27 : 71 = 0,38	79 : 95 = 0,83	74 : 95 = 0,78	58 : 74 = 0,78	54 : 74 = 0,73
	22 : 76 = 0,29	77 : 95 = 0,81	80 : 95 = 0,84	58 : 80 = 0,73	64 : 80 = 0,80
87	25 : 85 = 0,29	95 : 105 = 0,90	90 : 105 = 0,86	65 : 90 = 0,72	85 : 90 = 0,94
	17 : 92 = 0,18	80 : 105 = 0,76	100 : 105 = 0,95	70 : 100 = 0,70	87 : 100 = 0,87
88	31 : 69 = 0,45	78 : 87 = 0,90	73 : 87 = 0,84	55 : 73 = 0,77	60 : 73 = 0,82
	27 : 66 = 0,41	75 : 87 = 0,86	70 : 87 = 0,80	50 : 70 = 0,71	55 : 70 = 0,79
89	19 : 70 = 0,27	91 : 97 = 0,94	75 : 97 = 0,77	55 : 75 = 0,73	52 : 75 = 0,69
	20 : 75 = 0,27	87 : 97 = 0,90	80 : 97 = 0,82	64 : 80 = 0,80	60 : 80 = 0,75
90	7 : 60 = 0,12	57 : 70 = 0,81	60 : 70 = 0,86	43 : 60 = 0,72	41 : 60 = 0,68
	8 : 59 = 0,14	65 : 70 = 0,93	62 : 70 = 0,89	42 : 62 = 0,68	55 : 62 = 0,89
91	22 : 74 = 0,30	90 : 96 = 0,94	80 : 96 = 0,83	56 : 80 = 0,70	65 : 80 = 0,81
	29 : 79 = 0,37	88 : 96 = 0,92	85 : 96 = 0,89	65 : 85 = 0,76	70 : 85 = 0,82
92	21 : 62 = 0,34	70 : 85 = 0,82	65 : 85 = 0,76	45 : 65 = 0,69	55 : 65 = 0,85
	12 : 65 = 0,20	66 : 85 = 0,78	65 : 85 = 0,76	50 : 65 = 0,77	55 : 65 = 0,85
93	11 : 71 = 0,15	78 : 87 = 0,90	77 : 87 = 0,89	58 : 77 = 0,75	55 : 57 = 0,96
	26 : 67 = 0,39	67 : 87 = 0,77	70 : 87 = 0,80	—	—
94	20 : 70 = 0,29	87 : 95 = 0,92	75 : 95 = 0,79	53 : 75 = 0,71	58 : 75 = 0,77
	26 : 68 = 0,38	83 : 95 = 0,87	70 : 95 = 0,74	53 : 70 = 0,76	54 : 70 = 0,77
95	31 : 75 = 0,41	50 : 82 = 0,61	77 : 82 = 0,94	52 : 77 = 0,68	65 : 77 = 0,84
	32 : 70 = 0,46	53 : 82 = 0,65	71 : 82 = 0,87	53 : 71 = 0,75	56 : 71 = 0,79
96	7 : 63 = 0,11	65 : 73 = 0,89	70 : 73 = 0,96	—	—
	—	—	—	—	—
97	21 : 52 = 0,40	50 : 68 = 0,74	52 : 68 = 0,76	38 : 52 = 0,73	42 : 52 = 0,81
	—	—	—	—	—
98	25 : 62 = 0,40	54 : 76 = 0,71	62 : 76 = 0,82	50 : 62 = 0,81	49 : 62 = 0,79
	20 : 65 = 0,30	66 : 76 = 0,87	66 : 76 = 0,87	—	—
99	7 : 64 = 0,11	74 : 84 = 0,88	67 : 84 = 0,80	47 : 67 = 0,70	52 : 67 = 0,78
	24 : 62 = 0,39	72 : 84 = 0,86	63 : 84 = 0,75	46 : 63 = 0,73	53 : 63 = 0,84
100	9 : 61 = 0,15	70 : 79 = 0,89	72 : 79 = 0,91	57 : 72 = 0,79	61 : 72 = 0,85
	9 : 62 = 0,15	70 : 79 = 0,89	66 : 79 = 0,84	48 : 66 = 0,73	51 : 66 = 0,77

Die erhaltenen Verhältniszahlen wurden in einzelne Rubriken eingeteilt, und in diese die Anzahl der entsprechenden Werte eingetragen. Da jedoch bei den verschiedenen Blättern die eine oder die andere Maßnehmung wegen Beschädigung der Spreite in Wegfall kommen mußte, so war es zur Vergleichung der Summen der einzelnen Abteilungen notwendig, diese in Prozenten der Gesamtfrequenz auszudrücken. Man erhält dann für das Vorkommen der verschiedenen Verhältniswerte der einzelnen Merkmale folgende Zahlen:

Verhältnis e : a.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,56—0,65	0,66—0,75	0,76—0,85	0,86—0,95	0,96—1,05	1,06—1,15
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei den widerstandsfähigen Stöcken	5,4	22,0	35,0	20,4	15,1	2,2
	bei den chlorotischen Stöcken	5,2	13,6	29,8	38,3	11,5	1,5

Verhältnis b : a.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,71—0,80	0,81—0,90	0,91—1,00	1,01—1,10	1,11—1,20
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei den widerstandsfähigen Stöcken	10,7	56,7	29,4	3,2	—
	bei den chlorotischen Stöcken	20,9	59,6	19,3	—	1,0

Verhältnis c : b.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,46—0,55	0,56—0,65	0,66—0,75	0,76—0,85	0,86—0,95
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei den widerstandsfähigen Stöcken	—	4,0	41,4	53,5	1,1
	bei den chlorotischen Stöcken	0,6	5,3	58,2	35,3	0,6

Verhältnis d : b.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,56—0,65	0,66—0,75	0,76—0,85	0,86—0,95	0,96—1,05	1,06—1,15	1,16—1,25
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei den widerstandsfähigen Stöcken	1,7	8,1	37,9	41,5	10,9	—	—
	bei den chlorotischen Stöcken	1,8	23,7	47,0	22,5	2,4	1,2	0,6

Verhältnis g : f.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,01—0,10	0,11—0,20	0,21—0,30	0,31—0,40	0,41—0,50	0,51—0,60	0,61—0,70
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei den widerstandsfähigen Stöcken	30,6	33,3	18,2	12,0	5,5	—	—
	bei den chlorotischen Stöcken	3,7	30,4	15,0	20,8	23,5	5,9	0,5

Bei Prüfung dieser Zusammenstellung ergibt sich, daß bei den widerstandsfähigen Stöcken die Linie e in Vergleich zu derjenigen der chlorosierenden etwas kürzer ist, b ist etwas länger, ebenso c und d. Das Blatt der widerstandsfähigen Stöcke wäre somit nach oben zu etwas enger gebaut, würde aber in den beiden unteren Seitenlappen etwas breiter und tiefer ausholen. Doch sind die Unterschiede so gering, daß ich unterlassen möchte, diesen Merkmalen einen Selektionswert beizumessen, da solche Verschiebungen auch unter dem Einfluß der verschiedenen Ernährungsverhältnisse stehen können. Ein wertvolleres

Verhältniszahlen der Messungen der Blätter des einzelnen widerstandsfähigen Sylvanerstockes (Gemarkung Zotzenheim).

Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f
1	33 : 75 = 0,44 30 : 79 = 0,37	14	6 : 32 = 0,19 7 : 36 = 0,19	27	7 : 62 = 0,11 9 : 61 = 0,15	40	7 : 95 = 0,07 7 : 97 = 0,07
2	15 : 70 = 0,21 5 : 68 = 0,07	15	5 : 41 = 0,12 6 : 40 = 0,15	28	12 : 92 = 0,13 27 : 95 = 0,28	41	29 : 66 = 0,44 35 : 75 = 0,46
3	29 : 75 = 0,39 21 : 80 = 0,26	16	6 : 39 = 0,15 8 : 40 = 0,20	29	5 : 85 = 0,06 14 : 88 = 0,16	42	18 : 60 = 0,30 20 : 60 = 0,33
4	14 : 89 = 0,16 23 : 83 = 0,28	17	16 : 82 = 0,20 7 : 84 = 0,08	30	10 : 84 = 0,12 5 : 75 = 0,07	43	8 : 70 = 0,11 13 : 75 = 0,17
5	18 : 63 = 0,29 15 : 60 = 0,25	18	5 : 45 = 0,11 6 : 42 = 0,14	31	9 : 78 = 0,12 10 : 85 = 0,12	44	22 : 75 = 0,29 15 : 70 = 0,21
6	6 : 58 = 0,10 13 : 57 = 0,23	19	5 : 35 = 0,14 3 : 37 = 0,08	32	29 : 66 = 0,44 18 : 68 = 0,26	45	14 : 90 = 0,19 7 : 82 = 0,09
7	29 : 77 = 0,38 7 : 73 = 0,10	20	34 : 70 = 0,49 18 : 68 = 0,26	33	25 : 67 = 0,37 19 : 67 = 0,28	46	9 : 90 = 0,10 7 : 88 = 0,08
8	19 : 83 = 0,23 19 : 88 = 0,22	21	6 : 43 = 0,14 7 : 44 = 0,16	34	11 : 64 = 0,17 6 : 59 = 0,10	47	22 : 78 = 0,28 10 : 78 = 0,13
9	23 : 98 = 0,23 18 : 97 = 0,19	22	10 : 85 = 0,12 9 : 83 = 0,11	35	6 : 62 = 0,10 6 : 61 = 0,10	48	13 : 80 = 0,16 10 : 85 = 0,12
10	3 : 42 = 0,07 6 : 47 = 0,13	23	3 : 43 = 0,07 6 : 42 = 0,14	36	5 : 55 = 0,09 7 : 56 = 0,13	49	12 : 82 = 0,15 14 : 83 = 0,17
11	9 : 75 = 0,12 16 : 85 = 0,19	24	3 : 42 = 0,07 3 : 47 = 0,06	37	9 : 54 = 0,17 8 : 56 = 0,14	50	18 : 98 = 0,18 7 : 94 = 0,07
12	10 : 45 = 0,22 4 : 45 = 0,09	25	5 : 51 = 0,10 6 : 57 = 0,10	38	7 : 88 = 0,08 28 : 92 = 0,30		
13	3 : 30 = 0,10 3 : 33 = 0,09	26	15 : 83 = 0,18 21 : 83 = 0,25	39	7 : 82 = 0,09 15 : 80 = 0,19		

Merkmal gibt uns das Verhältnis g : f, also die Tiefe der Einbuchtung zwischen dem Mittellappen und dem Seitenlappen. Hier fallen bei den widerstandsfähigen Stöcken in die drei ersten Rubriken der Verhältniszahlen (von 0,01—0,30) 82,1 Proz. der Gesamtfrequenz, während in den gleichen Rubriken bei den chlorosierten Stöcken nur 49,1 Proz. verzeichnet sind. Es geht daraus deutlich hervor, daß in dem untersuchten Falle die chlorosewiderstandsfähigen Stöcke ein weniger tief gelapptes Blatt hatten als die chlorosierten.

Diese Untersuchungen waren im Jahre 1905 ausgeführt worden. Im folgenden Jahre wurden auch die Blätter des erwähnten anderen widerstandsfähigen Stockes auf das zuletzt genannte Merkmal untersucht, ebenso diejenigen der umstehenden chlorotischen Stöcke. Die erhaltenen Zahlen sind in der vor- und nachstehenden Tabelle wiedergegeben.

Verhältnis der Messungen der Blätter der den widerstandsfähigen Stock umgebenden **chlorotischen** Stöcke.

Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f	Lfd. No. d. Blattes	g : f
1	29 : 60 = 0,48 31 : 62 = 0,50	14	25 : 58 = 0,43 23 : 60 = 0,38	27	12 : 62 = 0,19 22 : 63 = 0,35	40	25 : 68 = 0,37 32 : 67 = 0,48
2	13 : 62 = 0,20 10 : 72 = 0,14	15	28 : 63 = 0,44 27 : 60 = 0,45	28	15 : 75 = 0,20 25 : 73 = 0,34	41	30 : 70 = 0,43 35 : 75 = 0,47
3	29 : 67 = 0,43 28 : 60 = 0,47	16	27 : 63 = 0,43 10 : 73 = 0,13	29	25 : 78 = 0,32 20 : 77 = 0,26	42	25 : 66 = 0,38 33 : 66 = 0,50
4	12 : 66 = 0,18 9 : 69 = 0,13	17	24 : 56 = 0,43 28 : 55 = 0,50	30	22 : 72 = 0,30 22 : 67 = 0,33	43	40 : 78 = 0,51 32 : 75 = 0,43
5	25 : 78 = 0,32 24 : 75 = 0,32	18	19 : 72 = 0,26 30 : 74 = 0,40	31	21 : 61 = 0,34 20 : 60 = 0,33	44	27 : 59 = 0,46 23 : 64 = 0,36
6	26 : 66 = 0,39 23 : 67 = 0,34	19	26 : 64 = 0,40 16 : 67 = 0,24	32	28 : 48 = 0,58 26 : 54 = 0,48	45	37 : 80 = 0,46 40 : 80 = 0,50
7	26 : 75 = 0,35 14 : 82 = 0,17	20	16 : 78 = 0,20 26 : 82 = 0,32	33	26 : 70 = 0,37 29 : 70 = 0,41	46	33 : 65 = 0,50 28 : 62 = 0,45
8	24 : 62 = 0,39 25 : 67 = 0,37	21	36 : 76 = 0,47 26 : 78 = 0,33	34	5 : 56 = 0,09 6 : 58 = 0,10	47	26 : 63 = 0,41 26 . 65 = 0,40
9	26 : 65 = 0,40 27 : 63 = 0,43	22	32 : 78 = 0,41 24 : 75 = 0,32	35	22 : 52 = 0,42 16 : 50 = 0,32	48	27 : 57 = 0,47 26 : 60 = 0,43
10	27 : 57 = 0,47 27 : 67 = 0,40	23	30 : 70 = 0,43 31 : 70 = 0,44	36	33 : 68 = 0,49 27 : 68 = 0,40	49	15 : 65 = 0,23 24 : 68 = 0,35
11	10 : 65 = 0,15 14 : 75 = 0,19	24	13 : 70 = 0,19 23 : 73 = 0,32	37	28 : 58 = 0,48 29 : 62 = 0,49	50	20 : 70 = 0,29 25 : 72 = 0,35
12	33 : 65 = 0,50 28 : 65 = 0,43	25	13 : 53 = 0,25 14 : 58 = 0,24	38	28 : 67 = 0,42 28 : 65 = 0,43		
13	27 : 78 = 0,35 29 : 75 = 0,39	26	21 : 60 = 0,35 11 : 60 = 0,18	39	29 : 60 = 0,48 29 : 60 = 0,48		

Die Frequenz der verschiedenen Verhältniswerte ist nach Einordnung derselben in Rubriken aus der nachstehenden Zusammenstellung ersichtlich.

Verhältnis g : f.

Gruppen der Verhältniszahlen		0,01—0,10	0,11—0,20	0,21—0,30	0,31—0,40	0,41—0,50	0,51—0,60
Häufigkeit des Vorkommens in Proz.	bei dem widerstandsfähigen Stock	28	42	20	5	5	—
	bei den chlorotischen Stöcken	2	13	8	34	41	2

In die drei ersten Gruppen der Verhältniszahlen (0,01—0,30) fallen hier bei dem widerstandsfähigen Stock 90 Proz. der Gesamtfrequenz, bei den chlorotischen nur 23 Proz. Das schon früher erhaltene Resultat tritt uns hier nach ausgesprochener entgegen.

Unsere Zahlen geben uns nur Aufschluß über die Tiefe der Einbuchtung ohne Beachtung der Form. Bezüglich dieser konnte ich die nachstehend gezeichneten drei Typen aufstellen, über deren Vorkommen in den untersuchten Fällen uns die folgende Zusammenstellung Aufschluß gibt. Die hier notierten Zahlen sind prozentig umgerechnet.

	Typ I	Typ II	Typ III
Widerstandsfähige Stöcke I	64,5	21,3	14,2
Widerstandsfähige Stöcke II	61	23	16
Chlorotische Stöcke I	29,9	16,6	53,5
Chlorotische Stöcke II	11	14	75

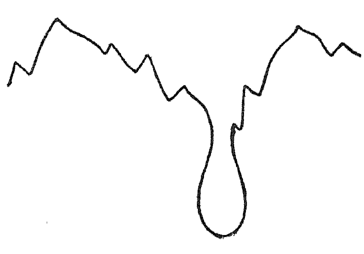
Typ I.



Typ II.



Typ III.



Auffallend ist die große Variationsweite des untersuchten Merkmals. Das Vorwiegen von Typ I für die Blätter der widerstandsfähigen Stöcke und von Typ III für diejenigen der chlorotischen Stöcke ist stark hervortretend, und wenn auf Grund dieser wenigen Fälle ein Urteil zulässig ist, so können wir sagen, daß bei Sylvaner die Untervarietäten mit schwach oder gar nicht gebuchtetem Blatt chlorosewiderständiger sind als diejenigen, deren Blatt tief und weit gebuchtet ist. Wir glauben uns zu diesem Schluß berechtigt, da nicht anzunehmen ist, daß die Tiefe und die Form der oberen Seiteneinbuchtung des Blattes jeweilig der Ausdruck bestimmter trophischer Verhältnisse ist, denn es kommen bei vielen Rebsorten Untervarietäten mit stark gelapptem und wenig eingeschnittenem Blatt vor, und diese Formerscheinung ist erblich.

Anatomisch ist in den Blattorganen beider Gruppen kein Merkmal vorhanden, das als Selektionsindikator dienen könnte, dagegen haben die diesbezüglich an den Gewebeteilen der Wurzeln vorgenommenen Messungen und Zählungen zu einem Resultate geführt, in dem ohne Zweifel mehr oder weniger markant ausgesprochene anatomische Merkmale der widerstandsfähigen Stöcke im Vergleich zu den chlorosierenden zu Tage treten.

Als Vergleichsobjekte wurden hierbei benutzt a) die Wurzeln chlorotischer Sylvanerstöcke aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell“ (Gemarkung Zotzenheim), b) Wurzeln chlorotischer Einzelstöcke von Sylvaner aus der Gemarkung Welgesheim, c) Wurzeln der vier widerstandsfähigen Stöcke aus der Gemarkung Zotzenheim, d) Wurzeln des einzelnen widerstandsfähigen Stockes derselben Gemarkung und endlich e) Wurzeln von Trollingerstöcken, einer Sorte, die, wie schon angegeben, eine große Chlorosefestigkeit besitzt.

Zu diesen Untersuchungen wurden Wurzeln in der Dicke von 1—3 mm ausgesucht, und die Schnitte unter dem Mikroskop nach zwei Richtungen gemessen, und aus der so erhaltenen Summe das Mittel genommen.

Auch der Durchmesser des Markes wurde durch doppelte Maßnehmung gewonnen.

Bei der Feststellung der Dicke des Holzkörpers wurden die von den primären Markstrahlen begrenzten Holzstränge radial gemessen, und aus den erhaltenen Zahlen das Mittel eruiert.

Die Zahlen für die Breite der primären und sekundären Markstrahlen stellen Mittelwerte dar, sind somit das Produkt zahlreicher Einzelmessungen.

Die Breite des Rindenparenchyms wurde zwischen Periderm und Interfascicularcambium ermittelt. Auch diese Werte sind Mittelwerte, da die Variation der Breitenverhältnisse dieses Gewebes bei ein und derselben Wurzel mindestens fünf Einzelmessungen erforderlich machte.

Ebenso sind die Zahlen für den Durchschnitt der Bastzone als Mittelwerte aufzufassen.

(Siehe Tabelle p. 140.)

Aus diesen Zahlenreihen lassen sich nachstehende Sätze ableiten:

1) Der Durchmesser des Markes der Wurzeln chlorosewiderstandsfähiger Sylvanerstöcke, wie auch der Trollingerstöcke ist bedeutend größer als derjenige chlorosierender Sylvanerstöcke, die nur einen sehr geringen oder gar keinen Markkörper haben.

Vergleichende Uebersicht über die Größenverhältnisse, bezw. die Anzahl der einzelnen Gewebeteile der Wurzeln chlorotischer und widerstandsfähiger Rebstöcke.

a) Wurzeln von chlorotischen Sylvanerstöcken aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell“ (vorn).
b) Wurzeln chlorotischer Einzelstöcke von Sylvaner aus der Gemarkung Welgesheim.
c) Wurzeln widerstandsfähiger Sylvanerstöcke aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell“ (vorn).
d) Wurzeln eines widerstandsfähigen Sylvanerstockes aus dem Chloroserevier in der „Langen Sonnhell“ (hinten).
e) Wurzeln von Trollingerstöcken.

Nummer der untersuchten Wurzeln		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Im Mittel
		μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ	μ
Durchmesser des Wurzelkörpers	a	1120	1288	1360	1560	1600	1924	2080	2128	2240	2516	3200	1910
	b	1188	1296	1360	1588	1614	1922	2014	2160	2236	2480	3208	1915
	c	1160	1280	1320	1520	1736	1936	2000	2120	2200	2560	3280	1919
	d	1104	1296	1336	1600	1680	—	—	—	2380	2520	3232	1894
	e	1040	1200	1360	1592	1620	1840	2072	2160	2280	2750	3276	1926
Durchmesser des Markes	a	0	136	64	0	128	72	128	80	160	112	0	80
	b	0	0	56	0	0	80	0	0	112	96	204	50
	c	40	80	192	208	0	480	160	280	560	800	200	273
	d	224	40	360	128	236	—	—	—	320	96	360	221
	e	240	120	48	96	136	184	360	224	200	120	200	175
Dicke des Holzkörpers im Radius, gemessen von der Peripherie des Markes bis zum Cambium	a	300	360	354	454	470	532	603	708	880	720	1016	582
	b	386	435	295	523	582	587	645	719	627	726	976	591
	c	367	322	285	336	540	376	590	586	391	424	1083	482
	d	216	360	258	375	437	—	—	—	600	667	880	474
	e	200	289	360	374	412	460	426	576	624	722	920	487
Zahl der primären Markstrahlen	a	5	4	4	4	5	4	5	4	5	5	5	4,5
	b	4	5	4	2	4	5	4	4	4	6	7	4,5
	c	4	5	5	6	4	9	6	4	14	15	6	7,1
	d	7	4	7	4	8	—	—	—	10	5	6	6,4
	e	6	7	5	5	7	11	11	9	6	6	7	7,3
Zahl der sekundären Markstrahlen	a	0	0	0	1	2	3	5	7	2	12	7	3,5
	b	1	1	1	10	3	3	4	4	9	8	14	5,3
	c	4	5	2	6	5	5	6	12	0	0	18	5,7
	d	3	1	4	5	4	—	—	—	7	4	16	5,5
	e	0	1	5	5	3	3	6	3	8	12	9	5,0
Gesamtzahl der Markstrahlen	a	5	4	4	5	7	7	10	11	7	17	12	8,1
	b	5	6	5	12	7	8	8	8	13	14	21	9,7
	c	8	10	7	12	9	14	12	16	14	15	24	12,8
	d	10	5	11	9	12	—	—	—	17	9	22	11,9
	e	6	8	10	10	10	14	17	12	14	18	16	12,3
Breite der primären Markstrahlen, gemessen am Interfascicularcambium	a	140	140	100	100	69	112	117	130	60	93	155	111
	b	123	112	84	100	117	142	178	152	140	134	140	129
	c	75	75	75	88	110	89	105	126	87	94	108	94
	d	38	80	56	104	53	—	—	—	112	126	102	84
	e	34	48	76	94	75	50	54	93	108	186	153	88
Breite der sekundären Markstrahlen, gemessen am Interfascicularcambium	a	—	—	—	32	48	44	62	72	51	63	107	60
	b	24	40	56	54	44	40	52	48	61	56	54	48
	c	40	28	64	40	35	43	69	53	—	—	49	47
	d	24	32	21	67	32	—	—	—	67	53	57	44
	e	—	32	37	51	45	36	38	64	56	59	90	51
Breite des Rindenparenchyms, gemessen vom Periderm bis zum Interfascicularcambium	a	229	156	220	276	213	358	346	282	184	436	521	293
	b	147	162	320	226	224	254	298	315	368	398	466	289
	c	169	255	246	265	278	302	308	410	377	405	446	315
	d	180	200	203	292	269	—	—	—	390	492	514	318
	e	180	208	276	316	313	336	361	341	382	554	553	347
Durchmesser der Bastzone, gemessen in der Richtung des Wurzelradius	a	106	98	170	130	136	124	166	247	128	256	272	167
	b	72	100	186	150	149	193	169	186	168	200	271	168
	c	84	115	99	128	93	113	119	161	137	154	160	124
	d	120	120	116	130	129	—	—	—	154	240	246	157
	e	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

2) Der Holzkörper der Wurzeln der chlorosefesten Sylvanerstöcke, wie auch der Trollingerstöcke ist etwas weniger umfangreich als derjenige der chlorosierenden Sylvanerstöcke.

3) Die Gesamtzahl der Markstrahlen, wie auch die Zahl der primären Markstrahlen ist bei den chlorosierenden Sylvanerstöcken geringer als bei den chlorosefesten Sylvanerstöcken und den Trollingerstöcken.

4) Die Breite der primären Markstrahlen ist bei den chlorosierenden Sylvanerstöcken etwas beträchtlicher als bei den chlorosefesten Sylvanerstöcken und den Trollingerstöcken.

5) Der Durchmesser des Rindenparenchyms ist bei den chlorosierenden Sylvanerstöcken geringer als bei den chlorosefesten Sylvanerstöcken und den Trollingerstöcken.

Die Zahl der sekundären Markstrahlen, wie auch der Durchmesser der Bastzone läßt bei den Vergleichsobjekten keine feststehende Tendenz nach irgend einer Richtung erkennen.

Auf Tafel III sind Wurzeltypen der untersuchten chlorosierenden (Fig. 1) und chlorosefesten (Fig. 2) Sylvanerstöcke dargestellt, die die wichtigsten Merkmale zur Anschauung bringen. Wir sehen darauf auch die bei chlorotischen Wurzeln häufig vorkommenden Gewebedefekte im Rindenparenchym, in deren Nähe Stärke abgelagert ist. Diese Desorganisation von Zellkomplexen ist n. m. A. auf Absterbeerscheinungen infolge der geschilderten ungünstigen Lebensbedingungen in schweren kalkhaltigen und feuchten Böden zurückzuführen.

Bei den eingangs dieser Arbeit gegebenen Kennzeichen der anatomischen Struktur der Wurzeln chlorotischer Sylvanerstöcke soll diese, worauf ich hier nochmals betonend hinweisen möchte, nicht etwa als in Abhängigkeit von der chlorotischen Erkrankung aufgefaßt werden, sondern sie soll nur als Ausdruck des sachlichen Befundes dienen. Ich neige eher der Ansicht zu, daß das Vorherrschen des Grundgewebes in den Wurzeln der chlorosefesten Stöcke deren Widerstandsfähigkeit erhöht, wenn nicht sogar diese bedingt, denn das Grundgewebe ist reichlich luftführend, namentlich ist das Mark ein vorzugsweise aerenchymatisches Gewebe. Die genügende Anwesenheit von Luft innerhalb der Gewebe wird das Eintreten der Fäulnis bei Luftabschluß ganz wesentlich hinausschieben, und es werden deshalb wohl Rebstöcke mit solchen Wurzeln leichter imstande sein, eine eintretende Feuchtigkeitsperiode von nicht allzulanger Dauer ohne merklichen Nachteil für ihre Gesundheit zu ertragen.

Die Düngung der an Kalkchlorose erkrankten Reben.

Bei der Düngung der chlorotischen Rebstöcke müssen wir bestrebt sein, ihnen durch reichliche Zufuhr von Nährsalzen die Nahrungsaufnahme nach Möglichkeit zu erleichtern, da das erkrankte Wurzelsystem zu einem normalen Arbeiten unfähig ist. Der Stallmist, der sonst zu unseren besten Dungmitteln gehört, darf nur in kleinen Mengen und in stark verrottetem Zustande in Anwendung kommen, und er soll dabei entweder in ganz flache Gruben eingebracht oder am besten untergehackt werden.

Die künstlichen Düngesalze müssen hier im Vordergrunde stehen und unter ihnen in erster Linie die Kalisalze. Der Kainit ist zweckmäßig durch das 40-proz. Kalisalz zu ersetzen, da er wegen seines geringen Kaligehaltes in größeren Mengen gegeben werden müßte und

dann durch seinen Natrongehalt nachteilig auf die Bodenstruktur einwirken würde.

Aus dem gleichen Grunde muß man mit der Anwendung des Chilisalpeters vorsichtig sein. Man ersetzt ihn am besten ganz oder zur Hälfte durch Ammoniak. Statt dieser Salze kann man auch hochprozentige organische Stickstoffdünger (Guano, Taubenmist, Hornmehl, Lützeler Fleischguano etc.) verwenden.

Die Phosphorsäure wird am besten in Form des Superphosphates zugeführt, da dessen Schwefelsäuregehalt günstig auf die Aufschließung der Bodennährstoffe einwirkt.

Als eine anfänglich zuträgliche Düngung sei folgende angegeben: Pro Morgen: $1^1/_2$—2 Ztr. 40-proz. Kalisalz, $^3/_4$ Ztr. Superphosphat, $^1/_2$ Ztr. schwefelsaures Ammoniak und $^1/_2$ Ztr. Chilisalpeter. Bei fortschreitender Gesundung der Reben sind in den folgenden Jahren die Stickstoffgaben allmählich zu erhöhen und zwar am besten durch die obengenannten organischen Düngemittel.

Sehr zu empfehlen ist es, aus den Wagnerschen konzentrierten Nährsalzen eine Lösung herzustellen und diese durch 2—3 Fuß tiefe Löcher dem Untergrunde zuzuführen. Mit einer derartig vorgenommenen Düngung hatte nach einer Mitteilung des Herrn Bürgermeisters Geil[1]) von Bechtheim (Rheinhessen) der Landwirt J. Kurz aus Osthofen eine chlorotische Weinbergsstelle vollkommen beseitigt.

Auch bei gelbsüchtigen Bäumen hat man in kalkhaltigem Terrain durch Einspritzungen von Kaliphosphatlösungen in die tieferen Schichten des Bodens sehr günstige Resultate erzielt[2]).

Trotz alledem kann durch eine sachgemäße Düngung allein eine endgültige Heilung der Chlorose ebensowenig herbeigeführt werden, wie durch die Anwendung des Eisenvitriols, da durch diese Mittel die Symptome der Krankheit ja zeitweilig beseitigt werden können, ihre tieferen ursächlichen Bedingungen aber dadurch nicht behoben werden.

3. Die Chlorose infolge zu großer Trockenheit des Bodens.

Ob Trockenheit des Bodens im stande ist, Gelblaubigkeit bei den Reben hervorzubringen, ist eine umstrittene Frage. Dufour[3]) glaubt dies verneinen zu dürfen, da bei in Töpfen wachsenden Rebstöcken, die mehrere Wochen nicht begossen wurden, die Blätter vertrockneten und abfielen, ohne eine Spur von Chlorose zu zeigen. Auch Roux[4]) sagt: „Alle Versuche, die angestellt wurden, um den Einfluß der Trockenheit in dieser Hinsicht festzustellen, ergaben negatives Resultat. Die Trockenheit dörrt die Pflanzen, indem sie dieselbe entwässert, aber sie entfärbt sie nicht.“

Den Versuch Dufours habe ich wiederholt, und ich muß bestätigen, daß das Resultat so war, wie er es schildert. Die Blätter welken und dürren, wenn einmal die Wasserarmut des Bodens kritisch wird, so rapid, daß zu einer Vergilbung keine Zeit bleibt. Solche Verhältnisse kommen im freien Felde aber nur selten vor. Hier dürfen wir deshalb fast nur von mangelhafter oder ungenügender, partieller Wasserzufuhr

---

1) Briefliche Mitteilung vom 14. Febr. 1906.

2) Siehe Mangnien, A., Traitement de la chlorose des arbres fruitiers. (Progrès agr. et vit. 1900. p. 681.)

3) Allgemeine Wein-Zeitung. 1898. No. 23. p. 223.

4) l. c. p. 377.

reden, da die tiefer gehenden Wurzeln immer noch in mehr oder weniger feuchte Schichten reichen. Wenn wir aber Reben in Töpfen mangelhaft bewässern, dann fangen nach einiger Zeit die unteren Blätter an gelb zu werden und abzufallen, wie ich dies in verschiedenen Versuchen feststellen konnte (Taf. IV, Fig. 1).

Wir haben hier eine Erscheinung, die in ihren Ursachen mit dem herbstlichen Laubfall bis zu einem gewissen Grade identisch ist, denn auch dieser wird nach Wiesner[1]) in erster Linie veranlaßt durch die infolge des Temperaturabfalles im Herbst herbeigeführte Verminderung der Transpiration, durch welche die Bildung organischer Säuren gefördert wird, die ihrerseits die Mittellamelle der Zellen der Trennungsschicht lösen und so den Blattfall bedingen. Da der Vorgang langsam verläuft, und die geringe noch dem Boden entzogene Nährlösung den oberen Blättern zuströmt, während die unteren von diesen entleert werden, so bleibt den Blättern Zeit, den Vergilbungsprozeß einzuleiten, der dadurch zu stande kommt, daß das vom Lichte zerstörte Chlorophyll infolge des Mangels an aufbauender Substanz nicht mehr erneuert werden kann. Das ist eine Form der Chlorose infolge Trockenheit des Bodens. Es gibt daneben noch mehrere andere.

Dufour (l. c.) sagt weiter: „Nichtsdestoweniger kommt es vor, daß ein sehr trockenes Klima Chlorosis hervorruft und zwar in solchen Böden, in welchen sie sich in einer weniger trockenen Gegend nicht zeigen würde; dies kommt daher, daß in diesem Falle die Dürre die Wurzeln dazu zwingt, tiefer einzudringen, um Feuchtigkeit zu finden, wobei sie in eine kalkhaltige Zone geraten." Auch Ravaz[2]) verkündet den chloroseverschärfenden Einfluß der Trockenheit der oberen Schichten bei kalkhaltigem Untergrund.

Trocknet der Boden in langen Hitzeperioden in den oberen Schichten stark aus, dann müssen allerdings die Wurzeln tiefer hinabgehen, um den Wasserbedarf der Reben zu decken. Doch infolge der Lahmlegung der Tätigkeit des Wurzelsystems in den oberen, nährstoffreicheren Bodenschichten wird die Ernährung der Stöcke eine ungenügende, da die tieferliegenden Schichten meist sehr arm an aufgeschlossener Pflanzennahrung, besonders aber an stickstoffhaltigen Bestandteilen sind. Die Nitrifikation in den oberen Schichten ist aufgehoben. Das Hinabsickern von salpeterhaltigem Wasser zu den Untergrundschichten ist sistiert. Die Pflanze leidet somit weniger an ungenügender Wasserzufuhr als vielmehr an Nährstoffmangel. Es sind nicht etwa die Kalkschichten des Untergrundes, die das Vergilben der Blätter in den von Dufour und Ravaz erwähnten Fällen herbeiführen, sondern es ist die Armut dieser Schichten an aufnehmbarer Pflanzennahrung, besonders aber an Stickstoff. Die Gelblaubigkeit ist hier der Ausdruck eines längere Zeit anhaltenden Hungerzustandes der betroffenen Pflanzen.

Durch ein einfaches Experiment habe ich diese natürlichen Verhältnisse nachgeahmt. Drei mit Sandböden angefüllte und je einem Rebensteckling bepflanzte Blumentöpfe, deren Wurzeln teilweise am Abzugsloch herausgewachsen waren, wurden über je ein Gefäß mit destilliertem

1) Wiesner, J., Untersuchungen über die herbstliche Entlaubung der Holzgewächse. (Sitzungsber. der K. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. LXIV. 1871. p. 461.)

2) Ravaz, Rapport à M. le président du Comité de Viticulture de l'arrondissement de Cognac, 1891; zit. nach Houdaille et Semichon. l. c. p. 255.

Wasser gestellt, derart daß die aus der Bodenöffnung der Blumentöpfe herausragenden Wurzelenden in dieses hineinreichten. Das Wasser in den untersetzten Gefäßen wurde zeitweilig erneuert, während die Erde in den Töpfen vollkommen ohne jegliche Bewässerung blieb. Die Wurzeln in den Untersätzen wuchsen sehr rasch und bildeten ein sehr reich verzweigtes System. Nur bei einem Steckling war der in das Wasser ragende Wurzelteil zu klein, um bei der raschen Austrocknung des Bodens für eine genügende Wasserzufuhr zu sorgen; — er verdorrte. Die beiden anderen blieben lange Zeit grün. Nach einigen (5—6) Wochen begannen aber die unteren Blätter einen hellquittengelben Farbenton anzunehmen, der nach oben fortschreitend allmählich auch bei den höher stehenden Blättern sichtbar wurde (Taf. IV, Fig. 2). Die gelben Blätter fielen hier aber nicht sofort ab, sondern blieben noch relativ lange am Triebe haften, doch nicht etwa so lange wie gesunde, grüne Blätter. Die Blätter krümmen sich hier am Rande nicht ein und zeigen auch keine Interkostal- oder Randdürre. Die Laminae ändern nicht ihren Winkel zur Achse des Blattstieles.

Es ist dies eine zweite Art von Gelbsucht infolge partieller Trockenheit des Bodens: die Chlorose aus Nährstoffmangel. Diese erscheint in einer besonderen Variation, wenn starkwüchsige Pflanzen in trockenem Boden einem starken sommerlichen Rückschnitt unterworfen werden. Die Pflanze sucht in diesem Falle die verlorenen Organe wieder möglichst bald zu ersetzen, verbraucht hierbei aber die nur aus den tieferen Bodenschichten zugeleiteten, wenig konzentrierten Nährsäfte allein zum Aufbau der Membranen und der plasmatischen Substanz, und es fehlt somit namentlich an stickstoffhaltigen Bestandteilen zur Ausbildung der Chlorophyllkörper. Mit der Gelb-, bezw. Weißfärbung der Blätter der neugebildeten Triebe geht hier ein Vergilben der unteren, älteren Blätter Hand in Hand.

Die Nährstoffmangel-Chlorose tritt auch auf, wenn ein seither nur sehr flach gehackter Weinberg plötzlich sehr tief gegraben wird, oder wenn beim Hacken eines trockenen Bodens dieser stark herausgebrochen wird. In einem jahrelang nur flach bearbeiteten Weinberg haben die Reben den größten Teil ihres Wurzelsystems in den oberen Bodenschichten entwickelt. Bei tiefem Hacken oder Herausbrechen des Bodens wird deshalb ein sehr großer Teil der oberen Wurzeln vernichtet, und der Weinstock ist in seiner Ernährung auf die tieferen, schlecht ausgebildeten Wurzeln angewiesen. Er leidet infolgedessen Nahrungsmangel und wird gelb. Auch die Gelblaubigkeit der Wurzelausschläge in ausgehackten Weinbergen hängt mit den eben geschilderten Verhältnissen kausal zusammen.

Endlich kann auch noch die Kalkchlorose in kalkhaltigen Böden nach einer lang anhaltenden Trockenheit mit folgender Regenperiode auftreten. Durch eine allzugroße Trockenheit des Bodens werden die feinsten Faserwürzelchen zum Absterben gebracht. Tritt nun plötzlich ein durchweichender Regen ein, dann saugen auch die nach den abgestorbenen Wurzeln hinführenden Gefäße begierig die Bodenflüssigkeit in großen Mengen ein. Diese ist aber jetzt in weit höherem Grade an Calciumbikarbonat angereichert als unter gewöhnlichen Umständen, da in einem vorher trockenen Boden sich bei reichlicher Wässerung eine rapide, vorübergehende Steigerung des Kohlensäuregehaltes der Bodenluft einstellt, die eine größere Lösbarkeit der Kalksalze bewirkt. In dieser Weise ist es auch erklärlich,

daß Storer[1]) beim Auslaugen von lange Zeit trockenem Lehm mit gekochtem, destilliertem Wasser sehr beträchtliche Quantitäten lösbaren doppelt kohlensauren Kalk im Filtrate fand. Das gelöste Bikarbonat tritt nun mit dem Bodenwasser in größeren Mengen in die entblößten Gefäße ein und erzeugt die chlorotische Erkrankung der Blätter, wie wir diese in Kalkböden nach langen Trockenperioden bei einsetzendem Regenwetter hie und da beobachten können.

Ebenso wie das Vertrocknen der feinen Faserwürzelchen können in diesem Falle auch die Beschädigungen der Wurzeln durch Milben wirken. Beide Verletzungen führen zu einer Offenlegung der Gefäße, die in diesem Falle genügt, um eine leichte Chlorose hervorzurufen, doch nur dann, wenn der Boden bis in tiefere Schichten ausgetrocknet war und wenn die Trockenperiode längere Zeit angehalten hat. Diese Chlorose kann aber immer nur eine sehr vorübergehende sein und kann nicht als eine ernstliche Erkrankung der Stöcke aufgefaßt werden. Bei sonst gesundem Wurzelwerk heilen übrigens derartige Wurzelverletzungen sehr bald wieder aus.

Gemäß der Lage der Ernährungsbedingungen in dem oben beregten Falle kann es vorkommen, daß die Erscheinungsformen der Nährstoffmangelchlorose sich mit denjenigen der Kalkchlorose mischen. Die letztere ist hier immer nur von kurzer Dauer, und durch die Anfeuchtung des Bodens werden der ersteren die Bedingungen zu weiterer Ausbreitung entzogen. Die Chlorosen infolge Trockenheit des Bodens sind bei Reben übrigens selten.

4. Die Chlorose infolge Wärmemangels in Luft und Boden.

Gelegentlich der Kälterückfälle im Frühjahr macht sich, wenn diese längere Zeit anhalten, häufig ein Verblassen des grünen Farbentones der Rebenblätter bemerkbar. Die Wärmemenge der Luft genügt alsdann nicht zur Neubildung des Chlorophyllfarbstoffes. Die in der Ausgestaltung ihrer Organteile schon weiter vorgeschrittene Rebe beansprucht nämlich zur normalen Ausbildung des Chlorophyllfarbstoffes eine höhere Temperatur als beim Entstehen der ersten Blätter, da sich das ökologische Temperaturoptimum nicht während der ganzen Entwickelung der Pflanze auf gleicher Höhe bewegt, sondern mehr oder weniger, wie Sachs gezeigt hat, mit der weiteren Entwickelung der Pflanze eine steigende Tendenz erkennen läßt. Bei zunehmender Temperatur nehmen die fahlgrün gewordenen Blätter wieder ihr normales Kolorit an.

Eine andere Form der Chlorose, die auf ungenügende Wärme im Boden zurückführbar ist, ist das Vergilben zu früh gehackter Jungfelder. Die jungen Stöcke haben den weitaus größten Teil ihres Wurzelsystems als Fußwurzeln am unteren Teile des Stecklings entwickelt. Die in deren Ausbreitungsgebiet liegenden tieferen Bodenschichten enthalten also vornehmlich die für den Stock maßgeblichen Vegetationsfaktoren, zu denen die Wärme nicht in letzter Linie zählt. Durch eine zu früh vorgenommene Lockerung des Bodens an der Oberfläche wird aber einesteils durch Unterbrechung der Bodenkapillare die Wasserleitung aus dem Untergrund erheblich gehemmt, und diese Schichten bleiben deshalb lange feucht und erwärmen sich schwerer. Noch mehr wird die Erwärmung des Untergrundes erschwert durch die darüber lagernde lockere Bodenschicht, da Luft der schlechteste Wärmeleiter ist. So kommt es, daß die Wärmemenge in den tieferen Schichten eines solchen Bodens eine ungenügende ist; die Ernährung der Reb-

1) Storer, F. H., Bulletin of the Bussey Institution. 1878. Vol. II. Part 3. p. 195; Zit. nach Wollny, Forschungen. 1881. Bd. IV. p. 32.

stöcke wird dadurch mangelhaft, und die neugebildeten Triebe zeigen gelbliches bis weißlichgelbes Laub.

Diese Art von Chlorose hatte im Jahre 1907 in Rheinhessen auch bei älteren Weinbergen eine sehr weite Verbreitung. Besonders trat sie in frühgehackten Weinbergen auf, während dicht daneben liegende, nicht behackte Rebfelder ein gesundes Grün zeigten. Die Rebstöcke an Wegen waren meist grün, während sie innerhalb der Weinberge häufig chlorotisch erkrankt waren.

Diese frühe Chlorose tritt unter den besagten Umständen außer bei Jungfeldern auch bei Weinbergen auf, die infolge einer sehr tiefen Hackkultur ihr Wurzelsystem nur in tieferen Bodenschichten entwickelt haben.

Ich habe versucht, in einem Experiment die eben geschilderten Verhältnisse nachzuahmen: Zwei mit Reben bepflanzte Töpfe wurden oben mit Watte belegt, darauf kam je ein die oberirdischen Teile des Stecklings durchlassendes Brettchen, das nach abermaliger Belegung mit Watte mit je einer doppelwandigen, den in die Luft ragenden Stockteil aufnehmenden Glasglocke überstülpt wurde. Unter diese Glocke kamen seitlich von dem Rebentrieb zwei mit Papier umwickelte cylindrische Glasgefäße, die abends und morgens mit Eisstückchen gefüllt wurden, und ein Thermometer. Der Versuch begann am 13. August und wurde am 13. September abgeschlossen. Die Temperatur unterhalb der Glocke schwankte zwischen 6—10° C. Eine weitgehende Verfärbung des Laubes war nicht eingetreten, auch die neuentwickelten Blättchen zeigten normale, wenn auch etwas schwache Grünfärbung. Es muß zu diesem Resultate bemerkt werden, daß einige Male die Eisfüllung wegen ausgebliebener Eislieferung unterbleiben mußte, und daß weiterhin die direkte Sonnenbestrahlung der Versuchsstöcke vermieden werden mußte in Rücksicht auf die Temperaturbedingungen des Versuches.

Ein anderes Experiment, in dem der Einfluß einer niedrigen Bodentemperatur auf die vegetative Entwickelung der Rebstöcke geprüft wurde, war von positiverem Erfolg. Zwei mit Rebstecklingen bepflanzte Töpfe wurden nach Verschluß des Abzugsloches im Boden und einem äußeren Oelanstrich in ein weiteres Gefäß eingestellt. Der freigelassene Zwischenraum wurde mit Wasser gefüllt. Diese beiden Gefäße kamen dann wiederum in einen größeren Behälter, der mit Eisstücken beschickt wurde. Das Eis wurde morgens und abends erneuert. In die Erde eines jeden Topfes war ein Thermometer eingesenkt, um jederzeit die Höhe der Bodentemperatur ablesen zu können. Eine Abkühlung der Luft in der Umgebung der Triebe durch die Eisstücke wurde durch überdeckende Watte verhütet. Der Versuch begann wie der vorhergehende am 13. August und wurde am 13. September abgebrochen. Bei den beiden Versuchsstöckchen hatten sich am Triebende während der genannten Zeit zwei neue Blätter entwickelt, die aber fast vollkommen weißfarbig waren.

Es scheint also, als ob für die Entwickelung der Kältechlorose die Temperatur des Bodens maßgeblicher sei als die der Luft. Die tieferen Ursachen sind übrigens auch bei beiden Einwirkungen verschieden. Die im Frühjahr zur Zeit großer Wuchsenergie der Reben erscheinende Chlorose findet ein Analogon in jener Chlorose, die bei sehr trockenem Boden an den jungen Trieben auftritt, wenn man starktriebige Pflanzen im Sommer tief einkürzt. In beiden Fällen steht die Nahrungszufuhr im ungünstigen Verhältnis zur Bedürfnisgröße.

Die durch die Kältechlorose hervorgerufenen Nachteile sind meist

wenig von Belang, denn der krankhafte Zustand weicht meist sehr schnell der zunehmenden Wärme. Ich kann deshalb die Ansicht Foëx'[1]), der der Bodentemperatur eine vorwiegende Bedeutung bei der Entwickelung der Rebenchlorose zuerkennen will, nicht teilen. Der genannte Autor stützt sich auf den nachfolgenden Versuch: Ein Beet mit Herbemont, das gewöhnlich gelbes Laub zeigte, wurde in vier Teile geteilt, von denen mehrere mit 0,05 m dicken Kokstrümmern bedeckt wurden. Der Koks war vor vorher in Salzsäure gewaschen worden, um ihn von allen löslichen Elementen zu befreien. Infolge dieser Bedeckung, die im Winter vorgenommen wurde, traten unter den verschiedenen Beetteilen im folgenden Sommer hervorstechende Unterschiede auf. In allen mit Koks bedeckten Vierecken waren die Stöcke grün, in den nicht bedeckten gelb. Im Boden angebrachte Thermometer zeigten in gleicher Zeit höhere Temperatur in den bedeckten Quartieren als in den unbedeckten, und die Entwickelung junger Wurzeln war in ersteren gegenüber letzteren um etwa einen Monat voraus.

Es ist in diesem Versuche sehr fraglich, ob die Nebenwirkungen des verwandten Materials bei der Beseitigung der Chlorose nicht gegenüber der von Foëx proklamierten Hauptwirkung, der Erhöhung der Bodentemperatur, im Vordergrunde standen. Auf alle Fälle sind hier die wirksamen Begleitfaktoren so zahlreich und so groß, daß eine so einseitige Deutung des Versuchsresultates abzuweisen ist. Auf jeden Fall zeigt aber auch dieser Versuch den günstigen Erfolg einer Schlackenbedeckung des Bodens bei Bekämpfung der Chlorose.

Einem zu starken Auftreten der Kältechlorose, soweit diese vom Boden abhängig ist, kann dadurch entgegengearbeitet werden, daß man das dazu neigende Rebfeld sehr spät, erst nach tieferer Durchwärmung des Bodens, behackt. Die Begründung dafür haben wir bereits früher gegeben. In kalten Böden ist weiterhin ein zu tiefes Roden (Rigolen) zu vermeiden, und eine Förderung des Tagwurzelsystems durch flacheres Hacken anzustreben.

5. Die hereditäre Chlorose und verschiedene andere Ursachen der ikterischen Erkrankung.

Wir haben im Vorstehenden die wichtigsten Ursachen der chlorotischen Erkrankung kennen gelernt. Diese machen sich jedoch immer bei mehreren Individuen zu gleicher Zeit und an gleichem Orte geltend, weshalb wir ja auch gewisse umgrenzte Chlorosestellen in den Weinbergen finden, oder ganze Rebfelder sich von der Krankheit befallen zeigen. Wie erklärt sich nun aber das Auftreten einzelner chlorotischer Stöcke, die wir mitten zwischen vollkommen gesunden Individuen zuweilen antreffen?

Eine Pflanze, die jahrzehntelang unter ungünstigen Wachstumsbedingungen gestanden und infolgedessen gewisse degenerative Eigenschaften zeigt, wird diese Minus-Variationen bei ihren Nachkommen auch noch dann eine Zeitlang hervortreten lassen, selbst wenn die nachteiligen Bedingungen, die sie schufen, in Wegfall kommen. Diese erbliche Nachwirkung ist bei der Stecklingsvermehrung besonders groß, viel größer als bei der Vermehrung durch Samen, denn „je größer im Verhältnis zum ganzen zeugenden Individuum der Teil desselben ist, der sich als überschüssiges Wachstumsprodukt von ersterem isoliert, desto

1) Foëx, G., Mémoire sur les causes de la chlorose chez l'Herbemont. 1882; zitiert nach Cours complet de viticulture. 1891. p. 462.

größer ist die Gemeinschaftlichkeit der materiellen Grundlage, desto größer ist der Grad der Erblichkeit, d. h. die Uebereinstimmung in Form und Funktion des zeugenden und des erzeugten Individuums" [Haeckel[1])].

Ein sehr bekanntes Beispiel intensiver erblicher Nachwirkung liefern die Serpentinformen Asplenium viride und Asplenium Adiantum nigrum, die sich von den typischen Arten durch gewisse morphologische Charaktere auszeichnen. Sadebeck[2]) gelang es nun innerhalb sechs Generationen diese Serpentinformen in die Urform zurückzuführen.

Schuebeler[3]) berichtet darüber, daß die Getreidearten des hohen Nordens, nach dem Süden verpflanzt, noch in der ersten Generation die kurze Entwickelungszeit ihres Mutterlandes bewahren.

Doch wir wollen unserer Aufgabe näher rücken und die Vererbung erworbener pathologischer Erscheinungen in den Kreis unserer Betrachtungen ziehen.

Unter gewissen, noch nicht näher bekannten Bedingungen entstehen bei den Reben Stöcke, die sich durch eine sehr reichliche Verzweigung der Triebe auszeichnen. Nach Ráthay[4]) erscheinen solche Stöcke meist in größerer Anzahl nebeneinander, was diese Erscheinung als den Effekt eines von außen kommenden Reizes kennzeichnet. Diese Krankheit kann bei den befallenen Stöcken wieder verschwinden, es ist also keine Mutation im Sinne von de Vries, aber die von kranken Stöcken genommenen Stecklinge behalten den mißgebildeten Habitus erblich bei, und sehr richtig sagt diesbezüglich Sorauer[5]): „Ist der krankhafte Entwickelungsmodus erst einmal durch mehrere Jahre am Individuum fest und typisch geworden, dann übertragen sich die schlechten Eigenschaften durch Stecklinge oder Senker auch an Oertlichkeiten, die an und für sich das Gabeln nicht hervorrufen würden."

Sehr leicht gelingt im allgemeinen die Uebertragung der Weißblättrigkeit (Albicatio) durch die Veredlung. Durch Smith und Burill[6]) wurde aber auch experimentell erwiesen, daß die in den Vereinigten Staaten weitverbreitete Gelbsucht der Pfirsiche durch Veredlung von Baum zu Baum übertragen werden kann.

Auf Grund unserer theoretischen Erwägungen und der weiteren Prämissen besteht die Möglichkeit, ja sogar eine sehr große Wahrscheinlichkeit einer erblichen Uebernahme der Chlorose durch Stecklinge von lang erkrankten Mutterpflanzen. Und damit eröffnet sich uns die Perspektive zur Erklärung des Auftretens der chlorotischen Einzelstöcke, die wir mitten zwischen gesunden Individuen zuweilen antreffen. Ich erblicke in dem krankhaften Zustande dieser Stöcke die erbliche Uebertragung gewisser, durch die chlorotischen Mutterpflanzen erworbener, innerer Bedingungen auf die Nachkömmlinge, die sich dadurch geltend machen, daß diesen entweder die Chlorose von Anfang an inhäriert oder aber, daß schon gewisse nach-

1) Haeckel, Ernst, Generelle Morphologie der Organismen. 1866. p. 175.

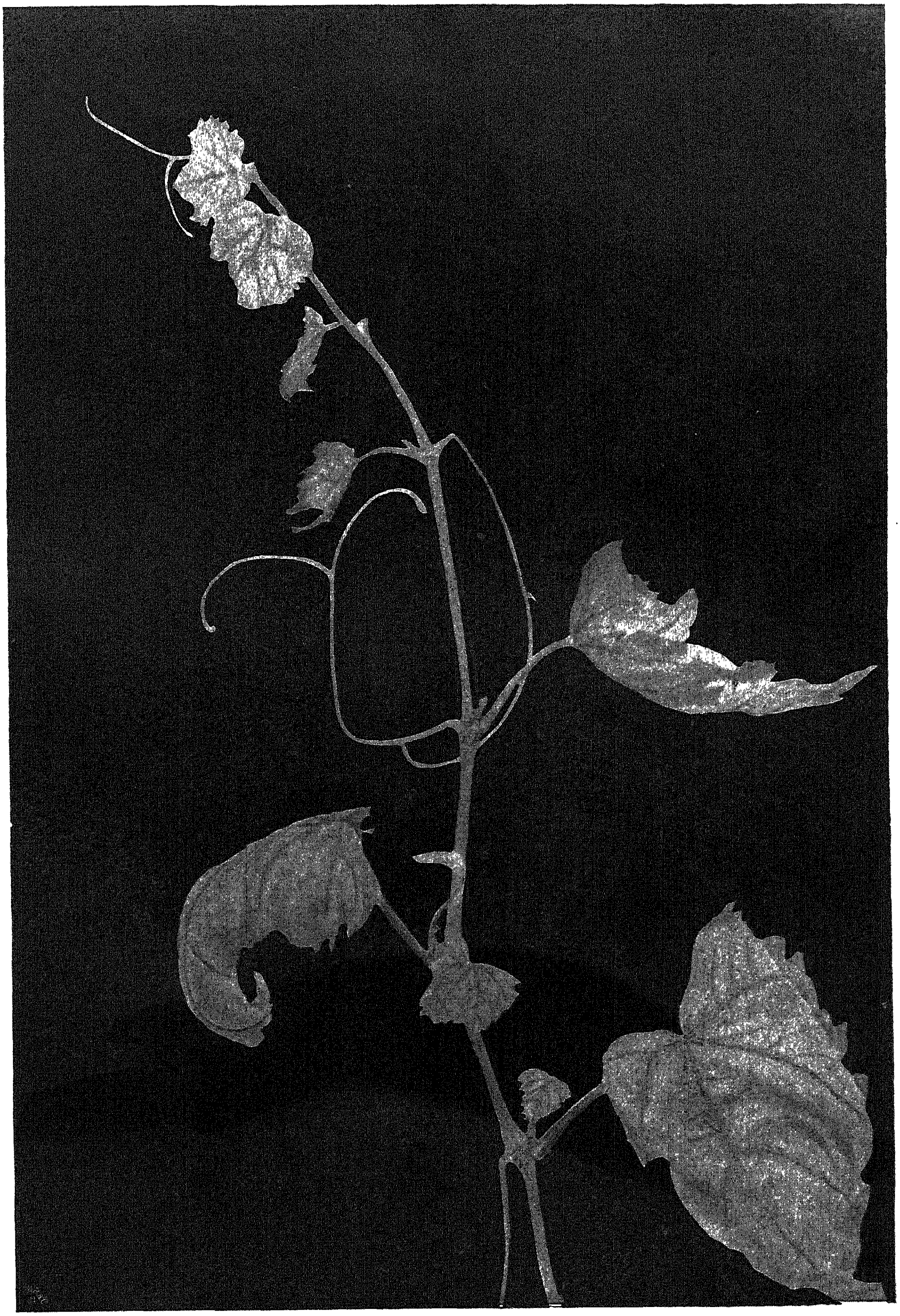
2) Sadebeck, R., Ueber die generationsweise fortgesetzten Aussaaten und Kulturen der Serpentinformen der Farngattung Asplenium. (Sitzungsber. d. Ges. f. Bot. Hamburg III. 1889.)

3) Schuebeler, F. G., Die Pflanzenwelt Norwegens. 1875.

4) Ráthay, Ueber die in Niederösterreich als „Gabler" oder „Zwiewipfler" bekannten Reben. 1883; zit. nach Justs Bot. Jahresber. 1883. Abt. II. p. 421.

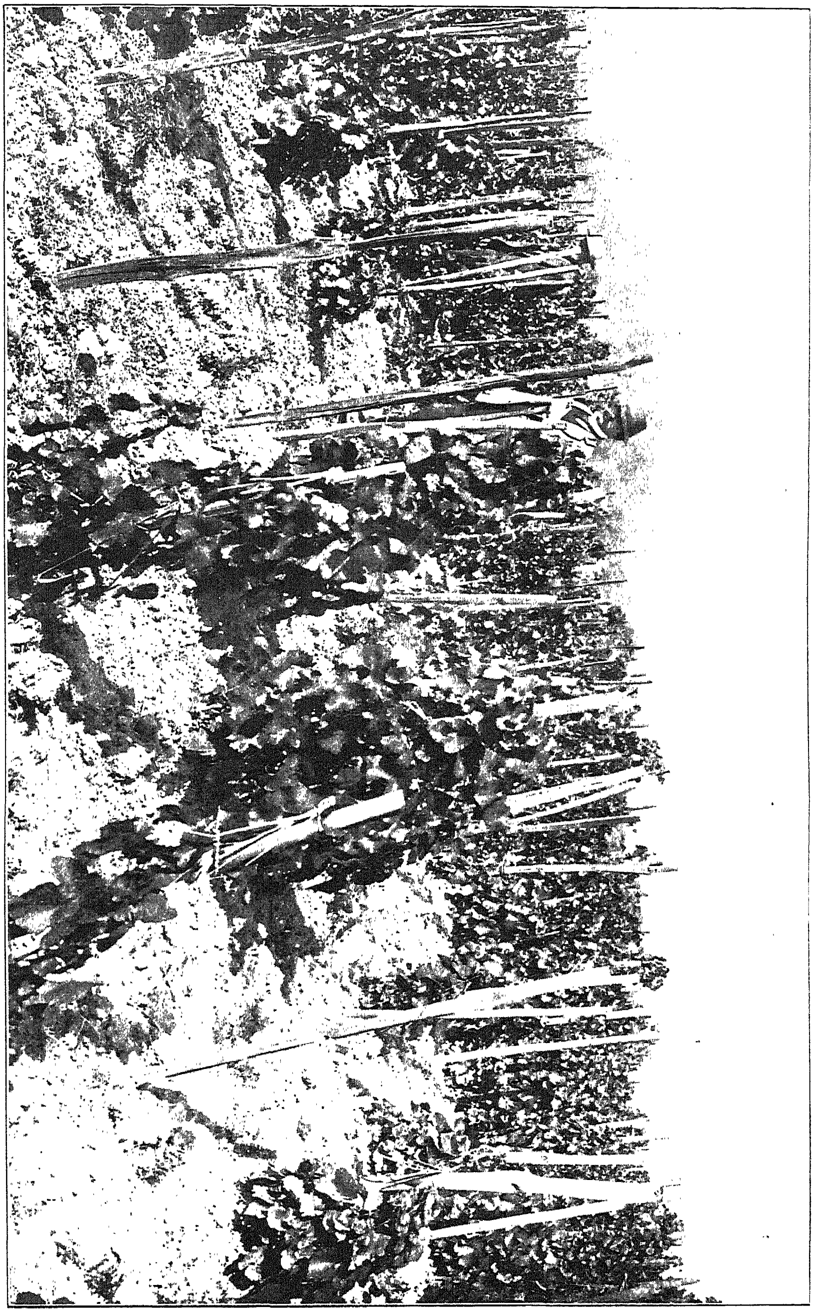
5) l. c. p. 248.

6) Smith, E. F. und Burill, Beobachtungen über die Gelbsucht der Pfirsiche. (Report of the chief of the section of vegetable pathology for the year 1888 by Galloway, Washington 1890; zit. nach Justs Bot. Jahresber. 1890. Abt. II. p. 252.)



Molz phot. et Gross ad nat. pinx. Verlag von Gustav Fischer, Jena. Meisenbach Riffarth & Co., Berlin.

Emil Molz, *Untersuchungen über die Chlorose der Reben.*



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Emil Molz, *Untersuchungen über die Chlorose der Reben.*

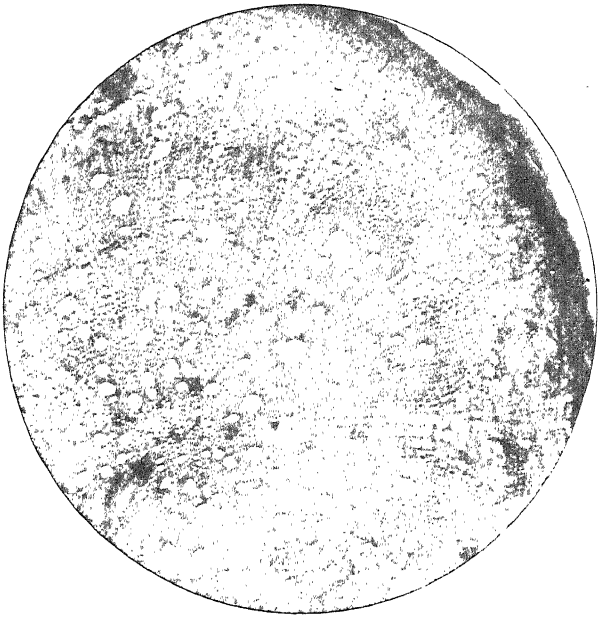


Fig. 1.

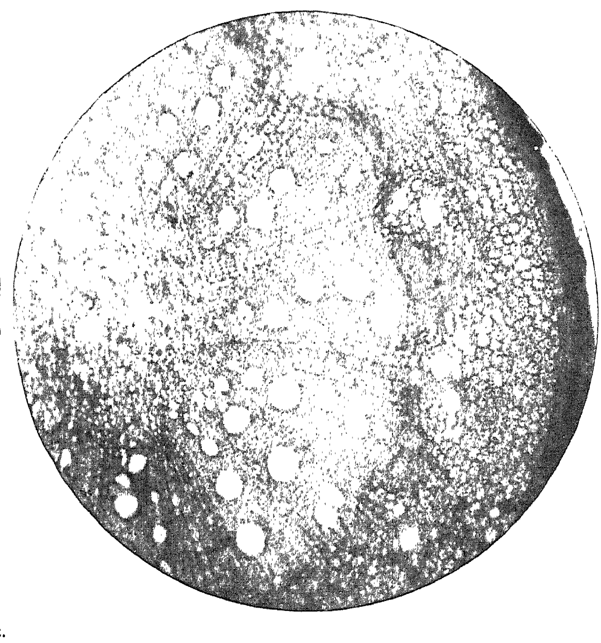


Fig. 2.

Molz, phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

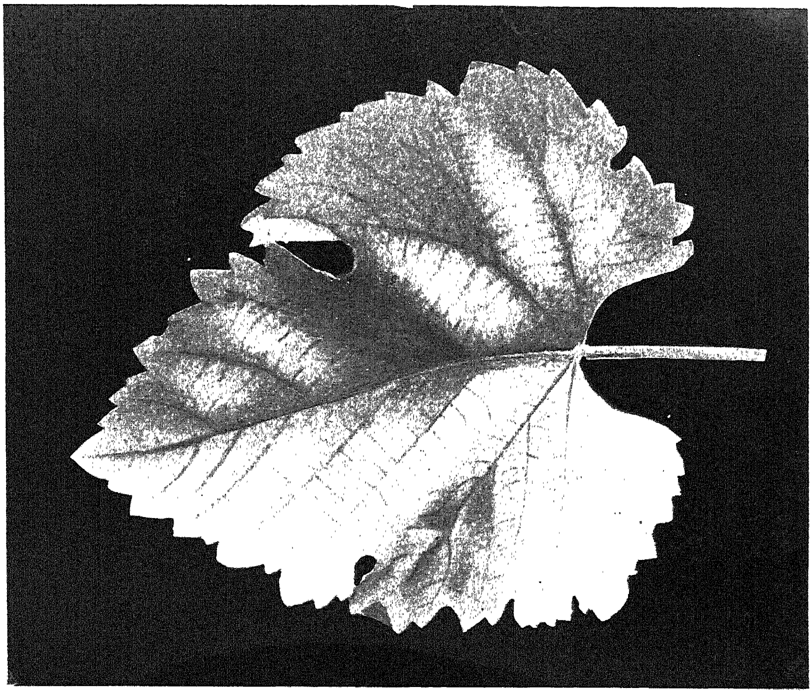


Fig. 1.

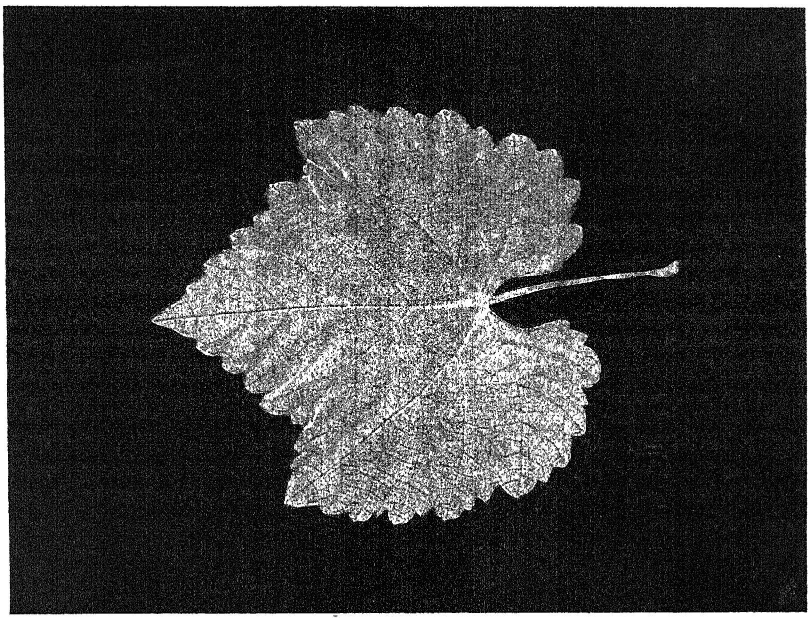


Fig. 2.

Molz phot. et Gross ad nat. pinx. Verlag von Gustav Fischer, Jena. Meisenbach Riffarth & Co., Berlin.

teilige Einwirkungen von außen infolge einer vorhandenen starken Prädisposition das ikterische Phänomen und dessen Folgezustände bei ihnen entstehen lassen.

Es gibt noch eine große Anzahl Ursachen, die geeignet sind, ein krankhaftes Vergilben der Blätter herbeizuführen. Ja wir können sagen, daß alle nachteiligen Einflüsse, die längere Zeit anhalten, vornehmlich die der Ernährung, das Chlorophyll allmählich farblich umstimmen, denn die Intensität des Blattgrüns ist, allgemein gesagt, ein Gradmesser für den Gesundheitszustand einer Pflanze. Einige der häufigeren Ursachen seien hier noch kurz erwähnt.

Von hohem Interesse ist da vor allem noch die Bleichsucht, die häufig entsteht als eine Folge der Veredlung europäischer Reben auf amerikanische Unterlagen. Auch hier sind die Entstehungsbedingungen noch nicht einheitlich aufgehellt. Doch leiten die einschlägigen, in Frankreich angestellten Untersuchungen zu der Ansicht hin, daß ätiologisch bei dieser Erkrankungsform vorwiegend die Veredlungsstelle in Betracht zu ziehen ist. Diese wirkt als Hindernis in den Leitbahnen des absteigenden Saftes, was eine Unterernährung des Wurzelsystems durch einen Mangel an assimilierter Substanz bewirkt. Andernteils häufen sich die aufgenommenen Stoffe in den über der Veredlungsstelle liegenden Stockteilen an und führen hier zu einem Ueberreichtum an Nährsalzen, wie dies Joulie[1]) durch analytische Befunde klargestellt hat.

Es haben 1000 g Blätterasche enthalten:

	bei gesunden Veredlungen	bei kranken Veredlungen
Stickstoff	27,90	35,26
Phosphorsäure	3,99	6,78
Kalk	32,98	33,30
Magnesia	4,78	5,32
Kali	9,63	24,82
Natron	0,68	0,46
Eisenoxyd	0,78	0,80

Die kranken Blätter haben gegenüber den gesunden, wie ersichtlich, einen erheblich höheren Gehalt an Nährsalzen, und wir dürfen nach Schimper einen Ueberreichtum an Salzen als ein Hemmnis für die Chlorophyllbildung ansehen.

Eine gewisse kausale Aehnlichkeit mit den erörterten ungünstigen Wirkungen der Veredlungsstelle haben die Folgen der Wurzelverletzungen durch tierische Schädlinge, wie durch die Larven von Eumolpus vitis, Otiorhynchus sulcatus, Melolontha vulgaris u. a.

Eine eigenartige Gelbfärbung erzeugt Tetranychus tellarius bei starkem Auftreten auf den Blättern der Weißweinsorten.

Von pilzlichen Parasiten, die Gelblaubigkeit hervorrufen können oder für deren Erscheinen verantwortlich gemacht wurden, seien noch angeführt Dematophora necatrix, Plasmopara viticola und endlich Spicularia Icterus, der von Fuckel[2]) seiner Zeit eine so ausschließliche Bedeutung für das Entstehen der Gelbsucht der Reben eingeräumt wurde.

1) Siehe Czéh und v. Molnár, l. c. p. 105.

2) Fuckel, L., Symbolae mycologicae, Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze. 1869. p. 359.

Interkortikale Schildbildung und Entwickelungsreihe von Diaspis fallax.

[Vorläufige Mitteilung.]

Von Dr. **H. Morstatt**,
Assistent an der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.

Im Verlaufe dieses Sommers angestellte Beobachtungen an Diaspis fallax und anderen Schildläusen führten zu dem Ergebnis, daß an dem Bau des weiblichen Schildes dieser Diaspine stets die äußerste Lage der Korkschicht beteiligt ist. Zugleich wurde dabei der einjährige Entwickelungsgang dieser Art im einzelnen verfolgt und festgelegt. Der ausführliche Bericht über diese Untersuchungen wird im Jahresbericht der kgl. Lehranstalt veröffentlicht werden.

Ueber die hier interkortikale Schildbildung genannte Erscheinung hat Reh im Anschluß an Arbeiten Marlatts und eigene Untersuchungen berichtet („Minierende Schildläuse" in Allg. Zeitschr. f. Entomologie 1902. p. 49). „Mit dem Ausdruck „mining scales" bezeichnete Marlatt solche Schildläuse, deren Schild von der obersten Epidermalschicht der betreffenden Pflanze ebenfalls überzogen wird." Marlatt beschreibt den Vorgang des Minierens folgendermaßen (übersetzt nach der von Reh l. c. angeführten Stelle): „Das weibliche Insekt dreht sich hin und her bei der Bildung des bedeckenden Schildes und vergrößert ihn durch Zusätze, dabei kann es sehr gut mit seinen flachen Chitinlappen unter die oberflächlichen und mehr oder weniger losgelösten Lagen der Rinde mit ihrer Bedeckung von Erde und anderen fremden Stoffen sich einschneiden. Dieses losgelöste Material schiebt sich über den Schild und haftet demselben dicht an und beeinflußt und verändert erheblich seine Farbe und Erscheinung." Reh erwähnt dann gelegentliches Minieren der Chionaspis furfura auf amerikanischen Apfelsorten und geht weiterhin auf eine andere Art des Minierens über, wobei die Larven „sich unter sich ablösende Peridermfetzen einzwängen, um sich hier auf der neuen weichen Rinde niederzulassen. Dadurch klebt nun das mehr als papierdünne lose Periderm (von Betula) auf dem entstehenden Schilde fest, so daß dieser schließlich von einem feinen weißen Ueberzug bedeckt ist und statt grauschwarz weißlich aussicht."

Es handelt sich nun darum, zu entscheiden, inwieweit hier ein bloßes Unterkriechen oder ein sogenanntes Minieren vorliegt und wie das Minieren vor sich geht.

Aus Anlaß von Versuchen über die Löslichkeit der Schilde von Diaspis fallax fand ich, daß der deckende Rückenschild des erwachsenen Weibchens sich stets aus drei Bestandteilen verschiedener Herkunft zusammensetzt, 1) den chitinösen Exuvien der Larve und Nymphe, 2) einer einzelligen Schicht vom Periderm des Substrates, und 3) der weißen sogenannten Wachsmasse, die wir vorläufig Chitinoid nennen wollen, da sie nach ihren physikalischen Eigenschaften keineswegs dem Wachs ähnlich ist, wohl aber dem Chitin sehr nahesteht. Dabei liegt die Larvenhaut zentral oben (bei D. fallax ohne Bedeckung mit Chitinoid); an sie schließt sich seitlich die Peridermlage an, welche sich am Rande des Schildes auf der Nährpflanze fortsetzt, bei jüngeren Schilden meist ohne jede Unterbrechung. Auf die Peridermlage folgt, mehr oder weniger zentral gelegen, die Nymphenhaut. Sie liegt ge-

wöhnlich in anderer axialer Richtung wie die Larvenhaut. Das Chitinoid endlich befindet sich unterhalb der Peridermschicht, sowohl über der Nymphenhaut als auch unterhalb derselben. Es ist am Rande des Schildes besonders reichlich ausgeschieden und füllt hier den Winkel, den die emporgewölbte und die darunter liegende Peridermlage bilden, bis zum Tier aus. So enthält ein leeres Schild, von unten gesehen, eine genau dem Körper der Schildlaus entsprechende Mulde.

Dieser Befund der Beteiligung von Korkzellen am Aufbau des Schildes, welcher durch Anwendung geeigneter Aufhellungsmittel unschwer festzustellen ist, stimmt mit den Angaben Marlatts und einigen Beobachtungen von Reh an anderen Arten überein. Es scheint mir jedoch erwähnenswert, daß Marlatt in seiner neuesten Monographie, „The San Jose or Chinese Scale" von 1906 die Peridermlage des Schildes von Aspidiotus perniciosus, die allerdings sehr schwer nachzuweisen ist, nicht anführt. Auch sonst ist dieselbe bisher nicht bekannt. Somit hat Marlatt wie auch Reh die Sache nicht weiter verfolgt und ihr anscheinend keine allgemeine Bedeutung zugelegt. Wir müssen aber nach meinen Beobachtungen in der interkortikalen Schildbildung eine reguläre Anpassung der Diaspinen an ihre Nährpflanze sehen.

Versuchen wir nun, den Vorgang der interkortikalen Schildbildung zu ermitteln. Er spielt sich bei Diaspis fallax nach meinen Beobachtungen in folgender Weise ab: Nachdem die Larve sich festgesetzt hat, scheidet sie zuerst aus den paarigen Rückenröhren, von denen das erste und größte Paar nahe hinter den Fühlern hervortritt, weiße Chitinoidfäden aus. Diese relativ dicken und spröden Fäden lassen sich nach ihrem Aussehen unter dem Mikroskop am besten mit Glaswolle vergleichen. Sie bedecken als loser Knäuel den Rücken der Larve, sind aber in späteren Stadien nicht mehr vorhanden. Bald beginnt auch am Hinterleibsrand die Sekretion viel feinerer Fäden, aus welchen durch Verschmelzen und Erhärten eine häutige Masse entsteht. Dadurch verklebt die Larve am Rande mit ihrer Unterlage. Nun erfolgt die Häutung, wobei die Nymphe nach unten aus der Exuvie heraustritt; die Nymphe ist also unter der Larvenhaut ganz eingeschlossen. Bei ihrem Weiterwachsen wird dann die oberste Lage des Periderms ringsum von innen her losgerissen und emporgehoben und darunter geht die weitere Chitinoidsekretion und die Vergrößerung des Tieres vor sich. Nymphenstadien der Schilde zeigen stets am Rande der Larvenhaut eine schmale farblose Zone, an welche sich die Zellenschicht anschließt. Bei jungen Schilden auf glatter Rinde setzt sich die Peridermschicht stets lückenlos auf der Umgebung fort, erst bei älteren Schilden beobachten wir dann ein teilweises Abreißen der Zellschicht am Rande, was für die Möglichkeit der Begattung wichtig ist. Durch die zweite Häutung kommt die Exuvie der Nymphe als Verstärkung des Schildes hinzu, sie verklebt infolge der weiteren Sekretion von Chitinoid durch das geschlechtsreife Tier mehr oder weniger fest mit dem Schilde.

Wie die obenerwähnte Stelle zeigt, hat Marlatt den Vorgang der Schildbildung anders erklärt. Obgleich zwar seine Beschreibung sich auf andere Diaspinen bezieht und hier zunächst nur von Diaspis fallax die Rede ist, glaube ich doch, sie berücksichtigen zu müssen, da ich bei den Schilden von Aspidiotus perniciosus, Asp. ostreaeformis und einigen anderen Arten die Peridermlage ebenfalls gefunden habe. Die Schildbildung geht hier analog derjenigen bei Diaspis fallax vor sich, worüber ich später berichten werde. Marlatt nimmt ein aktives Ein-

bohren vermittelst der chitinösen Hinterleibslappen an. Daß dieses nicht als Minieren bezeichnet werden sollte, hat schon Reh (l. c.) auseinandergesetzt. Ich kann mich der Erklärung Marlatts nicht anschließen. Wenn wir auch über die Funktion der Hinterleibslappen noch nicht unterrichtet sind, so ist doch zu bedenken, daß gerade in unserem Falle das jüngste Stadium der Nymphe in Betracht kommt, wo das ganze Tier noch zart und weichhäutig ist. Auch scheint mir die Tatsache, daß die Nymphe nur durch ihren Saugrüssel auf der Unterlage befestigt ist, einen derartigen einseitigen Kraftaufwand nicht zu begünstigen. Ich glaube, den vertikalen Druck, der bei der Vergrößerung der Nymphe entsteht — solche Schilde sind oft halbkugelförmig —, hier als entscheidend ansehen zu sollen. Die Drehung des Tieres ist allerdings nicht zu bestreiten, sie ist durch die stets verschiedene Orientierung von Larven- und Nymphenhaut bewiesen. Ich möchte sie aber vor allem damit in Zusammenhang bringen, daß die Sekrete, welche den Schild bilden, der Hauptsache nach vom Hinterleibsrand ausgehen. Ferner habe ich beobachtet, daß sie schon während der zweiten Häutung auftritt. Es wird dadurch die Exuvie am Rande gespalten; ihr Ventralteil verschmilzt späterhin mit dem sogenannten Ventralschild.

Ein Unterkriechen der Larve unter spontan abgelöste Peridermschichten liegt bestimmt nicht vor, denn die Larvenhaut ist normalerweise stets frei von der Peridermlage, was schon aus ihrem Glanze und der Färbung ersichtlich ist. Auch steht die Peridermlage junger Schilde ringsum in fester Verbindung mit ihrer Fortsetzung auf dem Substrat. Außerdem bevorzugen die weiblichen Larven die Ansiedelung unter dem Schilde der Mutter, also auf ganz glatter Rinde, und auch dort nehmen sie eine neue Peridermschicht in ihren Schild auf. Wenn sie nur unterkriechen würden, müßte hier der vorhandene Schild die Zellschicht ersetzen. Für entscheidend möchte ich den Nachweis halten, daß auf Querschnitten das der Größe der Larve etwa entsprechende Peridermstück, welches dem Schild in der Mitte fehlt, an seiner ursprünglichen Stelle unterhalb des Tieres festbleibend gefunden wird.

Die interkortikale Schildbildung findet ebenso bei Aspidiotus ostreaeformis statt, welcher schwarze Schilde besitzt und überhaupt dem schon genannten A. perniciosus sehr nahe steht. Hier ist die Larvenhaut als zentrale Wölbung sichtbar, sie wird meist durch Chitinoidauflagerung verdeckt. Die Rindenschicht ist aber bei A. ostreaeformis, ebenso wie bei A. perniciosus, viel schwerer nachzuweisen, da in diesem Falle die inhaltslosen Zellen des pflanzlichen Gewebes infolge des mit ihnen verklebten Sekretes nicht leicht sichtbar zu machen sind. Aehnlich verhält es sich mit Aspidiotus perniciosus. Wo aber bei solchen Schilden der Verlauf der so häufig auf ihnen angesiedelten Fumago-Fäden den radialen Zellwänden folgt, läßt sich indirekt das Vorhandensein der Peridermschicht erkennen.

Es sei noch erwähnt, daß weibliche Schilde von D. fallax auf Birnfrüchten eine hellbraune Farbe haben. Auch bei ihnen ist eine Epidermalschicht beteiligt.

Die Tatsache der interkortikalen Schildbildung macht uns erst die auffallende und schon lange bekannte Uebereinstimmung in der Färbung der Schilde und ihrer Unterlage verständlich. Sie trägt zum Festhaften der Schilde auf ihrer Nährpflanze wesentlich bei und verstärkt den Schutz des Tieres gegen äußere Einflüsse. Man kann wohl sagen, daß

in ihr die Anpassung der Schildläuse an ihre Lebensweise den höchsten Grad erreicht hat.

Die Eiablage beobachtete ich bei D. fallax von Ende Mai bis Ende August. Die Entwickelung der Larve im Ei geschieht erst nach der Ablage. Morphologische Geschlechtsunterschiede der Larven konnten nicht ermittelt werden. Nicht lange nach der Festsetzung der Larve erfolgt auch schon die erste Häutung und dann beginnt die eigentliche Schildbildung. Zugleich tritt dann der Geschlechtsunterschied in Erscheinung. Die weiblichen Nymphen nehmen deutlich abgerundete Form an mit der charakteristischen Abplattung des Hinterleibes, während die männlichen ihre längliche Gestalt beibehalten und ihre hintere Körperhälfte dicker wird. Wie aus der beschriebenen Schildbildung hervorgeht, macht das weibliche Tier nur zwei Häutungen durch. Wenn die Nymphe $^1/_2$ bis $^2/_3$ des Durchmessers der ausgewachsenen Tiere erreicht hat, erfolgt die zweite Häutung. Sie gelangte zuerst am 7. September zur Beobachtung. Hinzugefügt sei noch, daß zum weiblichen Ventralschild stets noch der Ventralteil der Nymphenhaut hinzukommt.

Während also von den weiblichen Tieren nur drei Entwickelungsstadien durchlaufen werden, sind es bei den Männchen deren fünf, indem zwischen Nymphe und Imago noch Propupa und Puppe hinzukommen. Dementsprechend finden im ganzen vier Häutungen statt. Dabei sind die Exuvien der drei späteren Häutungen außerordentlich dünn, sie verschmelzen mit dem Schild und sind deshalb in diesem später nicht mehr erkennbar. Bei Beobachtung kurz vor der Häutung stehender Stadien sind sie jedoch mit Sicherheit festzustellen. Die Entstehung der Hülle des Männchens geht in der Weise vor sich, daß nach der ersten Häutung am Hinterende des Tieres unter der Larvenhaut die weißliche Masse hervorzutreten beginnt, die allmählich größer wird und schließlich die scheidenförmige Hülle, den männlichen Schild darstellt. Es ist eine Art Cocon, bei dem Dorsal- und Ventralschild ein Stück sind. Im Stadium der Propupa wird der Schild härter und dünner, zugleich flacht er sich ab und bildet den Kiel auf der Rückenfläche. Am hinteren Ende ist er zugespitzt und offen. Im Nymphenstadium ist der Körper bekanntlich ohne Extremitäten, jedoch deutlich segmentiert. Die Augenflecke sind in allen Stadien vorhanden. Bei der Propupa treten wieder die plumpen Anlagen der Fühler und Beine hervor, der Körper wird mehr walzenförmig mit weniger deutlicher Segmentierung, und das Mundgerüst mit den Saugborsten fehlt. Das Stadium der Puppe unterscheidet sich von dem vorhergehenden durch die Anlage des Analgriffels. Das fertige Männchen besitzt keine Flügel; auch in den beiden Vorstadien sind keine Anlagen dazu vorhanden. Dementsprechend ist auch das Querband auf dem Rücken nur schwach entwickelt. Der Analgriffel besteht aus einer harten, scharf zugespitzten Rinne mit eingerollten Rändern, in der Rinne liegt der nicht chitinisierte Penis. Die ersten ausgeschlüpften Männchen fand ich Ende August, somit sind zu dieser Zeit alle Entwickelungsstadien gleichzeitig vertreten.

Aus den Beobachtungen über die Dauer des Entwickelungsganges geht hervor, daß es sich nur um eine Generation im Verlaufe eines Sommers handeln kann. Während die sehr zarten Männchen bald absterben, überwintern die weiblichen Tiere unter ihrem schützenden Schilde.

---

die SO_2 des Bieres zum größten Teile durch die Hefentätigkeit entsteht, und hat das allmähliche Anwachsen dieses Reduktionsproduktes während der Biergärung verfolgt (s. Tab. 449). Aehnliche Beobachtungen liegen bei Obstweinen und Weinmosten vor.

Das Auftreten von H_2S und verwandten Verbindungen im Verlaufe der Gärung von Bierwürze, Weinmost und Spiritusmaischen ist auch schon seit vielen Jahren bekannt und der sogenannte Böcksergeschmack sehr gefürchtet, über welchen bereits 1847 Leuchs berichtete. Nessler aber stellte 1869 fest, daß diese Erscheinung zuweilen bei Anwesenheit freien Schwefels im Wein resp. Most auftritt, zuweilen aber auch ohne solchen erscheint. Elementarer Schwefel aber kann im Moste vorkommen, da bekanntermaßen der Rebstock zur Abwendung des Oidium Tuckeri mit Schwefelblumen betäubt wird und ferner zum Ausfällen der zum Bespritzen der Trauben verwendeten Kupferkalklösung (Bordeauxbrühe) in Italien häufig Schwefel zugesetzt wird. Ueber zuverlässige Versuche mit Reinzuchten hat 1895 zuerst A. Nastukoff berichtet und der Einfluß der Züchtungsbedingungen auf das Eintreten oder das Ausbleiben der Schwefelwasserstoffbildung ist zuerst durch A. L. Stern 1899 erwähnt worden. Dann werden noch diesbezügliche Versuche von R. Schadner, Will, Wanderscheck u. A. angeführt.

Im VII. Abschnitt werden die Mucoraceengärungen von Prof. Dr. C. Wehmer besprochen und im 21. Kapitel mit der Morphologie und Systematik beginnend, folgt im § 101 deren systematische Stellung und Gliederung. Da für die technische Mykologie hauptsächlich die Gattungen Mucor und Rhizopus in Betracht kommen, so sei auf die diese beiden behandelnden Paragraphen besonders hingewiesen. Es finden sich hier die älteren und neuesten Forschungen an der Hand zahlreicher detaillierter Figuren niedergelegt und muß das Eingehen auf dieses reiche Material dem Interessenten überlassen werden. Gerade bei Mucor ergeben sich bei Artbestimmungen große Schwierigkeiten und ohne eingehende Kulturstudien ist kaum etwas Sicheres auszusagen. Es müssen daher auch die älteren Species kritisch betrachtet werden, und wenn auch A. Fischer 1892 in die alten von Saccardo zusammengestellten Arten durch Ausschaltung einer großen Anzahl Ordnung zu bringen suchte, so sind dann hierzu in den letzten Jahren wieder gegen 40 neue Species getreten, so daß heute ein Zurechtfinden unter denselben ungemein schwierig ist, jedenfalls ist in allen verwickelteren Fällen zur Identifizierung lebendes Vergleichsmaterial erforderlich. Es wird daher von Wehmer der Wunsch ausgesprochen, Sammlungen aller erreichbaren Arten in mykologischen Instituten anzulegen.

Die technische Bedeutung der Mucor- und Rhizopus-Arten liegt vor allem in ihrem Stärkeverzuckerungsvermögen, welches auch in der Brennerei (Bd. V, Kapitel 113) angewendet wird, ebenso findet Verwendung bei Schnupftabakfabrikation, Braunheudarstellung u. a. statt. Auffallen muß es, daß ganz besonders französische Forscher auf diesem Gebiete sehr tätig waren. — Die nächsten Paragraphen behandeln die Mucor-Arten mit unverzweigtem, traubig- und sympodialverzweigtem Sporangienträger, und auch hier sind zahlreiche erläuternde Figuren beigegeben. Den Schluß des Kapitels bilden die Angaben über Phycomyces, Thamnidium, Sporodinia und Tieghemella.

Auch das 22. Kapitel „Chemische Wirkungen der Mucoraceen“ hat Prof. Wehmer geschrieben und beginnt in § 109 mit der alkoholischen Gärung; er hebt zu Anfang die schon wiederholt berührte Fähigkeit der Mucor-Arten zur Umbildung von Zucker in Alkohol hervor und betont, daß mit Ausnahme von Mucor pusillus und M. corymbifer alle bis jetzt darauf untersuchten Arten diese Eigenschaft haben.

Wenn man auch diese schon seit vier Dezennien bekannte Erscheinung kurz als Alkoholgärung bezeichnete, so unterschied man doch von dem durch Saccharomyceten bewirkten Prozeß in der Art, daß die alkoholische Gärung durch echte Hefen neben der Sauerstoffatmung auch bei vollem Luftzutritt verläuft, diejenige der Mucoreen dagegen als Begleiterscheinung der intramolekularen Atmung, also als Folge des Luftabschlusses ansah. Nach den heutigen Kenntnissen über Mucoreengärung besteht jedoch dieser Unterschied nicht mehr und ist solche jetzt als echte alkoholische Gärung aufzufassen (s. Bd. I, p. 324). Bezüglich der neuesten Arbeiten hierüber, denen vergleichende Tabellen beigefügt sind, sei auf die p. 507—519 hingewiesen. Im § 110 wird dann die verzuckernde Wirkung besprochen, wobei es sich um einen durch Enzyme bewirkten Abbau handelt, welchem die Kohlenhydrate der Stärkegruppe unterliegen, und der letzte Paragraph macht uns mit den „Sonstigen Wirkungen“ bekannt. So ist es schon lange unbestritten, daß verschiedene Mucor- und Rhizopus-Arten ihre zuckerhaltige Kulturflüssigkeit ansäuern und so organische Säuren in freiem Zustande abspalten können, und auch Pasteur machte schon auf diesem Gebiete Versuche. Wehmer zeigte bei seinen Versuchen mit Rhizopus die Anwesenheit von Oxalsäure neben Bernsteinsäure und steht jedenfalls mit der Bildung einer derartigen Säure der häufig wahrgenommene esterartige Geruch der Kulturen mancher Arten im Zusammenhang.

Dann ist noch das meist sehr träge Gelatineverflüssigungsvermögen hervorzuheben, ähnlich den hierin meist noch trägeren Saccharomyceten (p. 524). Fettspaltung ist nur für einzelne Fälle sichergestellt; nach Hanus und Stocký wächst Mucor mucedo üppig in Butter, indem er das abgespaltene Glyzerin verbraucht, die niederen Fettsäuren oxydiert, die Oelsäure aber intakt läßt. Den Schluß bildet eine auf p. 527 befindliche Tabelle, welche zwecks schnellerer Orientierung eine Uebersicht der angeführten Mucor- und Rhizopus-Arten bezüglich der meist noch lückenhaft bekannten verschiedenen Wirkungen und Merkmale gibt.

Das beigefügte Sachregister bildet auf p. 529—558 den Schluß des IV. Bandes. Rullmann (München).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Stockhausen, F., Oekologie, „Anhäufungen“ nach Beijerinck. (Beiträge zur natürlichen Reinzucht der Mikroorganismen.) X und 271 p. 11 Textabbildungen. Berlin 1907. Preis 4 M.

Beijerinck selbst hat zwar eine zusammenfassende Darstellung aller in seinem Laboratorium gebräuchlichen Anhäufungsversuche gelegentlich einmal in Aussicht gestellt; leider ist sie bisher nicht erschienen. Stockhausens Arbeit, die 1906 in kürzerer Form in der Wochen-

schrift für Brauerei" erschien[1]), war zunächst für Gärungstechniker berechnet. Sie nahm deshalb ihren Ausgang von Delbrücks System der natürlichen Reinzucht und enthielt (in Form von Referaten der Originalarbeiten) eine Auswahl der Beijerinckschen Anhäufungsversuche. Dem 181 Seiten umfassenden Abdruck jener Veröffentlichung ist in der jetzt vorliegenden Buchausgabe ein ca. 90 Seiten langer Nachtrag beigefügt, in dem verschiedene, vorher nicht erwähnte Veröffentlichungen Beijerincks und seiner Schüler Berücksichtigung fanden. Sicherlich wird es von vielen Lesern des Centralblattes dankbar begrüßt werden, daß wir jetzt in Stockhausens Werk eine übersichtliche Zusammenstellung der vortrefflichen Methoden Beijerincks besitzen, die uns zugleich aufs deutlichste vor Augen führt, wieviel überaus wertvolle Fortschritte und wichtige Anhaltspunkte zu weiteren Arbeiten wir gerade diesem Forscher zu verdanken haben. Das beigegebene Sachregister wird im Laboratorium oft willkommen sein. Beim raschen Durchsehen des Buches vermißte ich nur die auf die Gewinnung des Bacillus aromaticus gerichteten (gleichfalls Beijerincks Laboratorium entstammenden) Anhäufungsversuche von J. van der Leck[2]).

Löhnis (Leipzig).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Hammerschmidt, Die Gnesener Kläranlage. Ein Beitrag zur biologischen Abwässerreinigung. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. LVII. 1907. Heft 3. p. 355.)

Hammerschmidt schildert die Lage der Stadt Gnesen zwischen 2 Seen auf hügeligem Gelände; sie besitzt keinen Flußlauf, jedoch einen schmalen, wasserarmen Graben, welcher in einem Sumpfgelände im Süden der Stadt entspringt, diese umfließt und nach 12 km langem Lauf in die Welna mündet. Er durchströmt 2 Seen, den 14 ha großen Zeloneksee, welcher die Stadt im Westen begrenzt, und den 18 ha großen Kreuzsee im Norden der Stadt. Diese Seen nahmen bis zur Kanalisation 1906 sämtliche Abwässer der Stadt einschließlich des größten Teils der Hauswässer in ungeklärtem Zustand auf. Die ungünstigen hygienischen Verhältnisse wurden noch verschlimmert durch mangelhafte Gewöhnung der Bevölkerung an Reinlichkeit und Ordnung sowie den nicht im Verhältnis zur Größe der Stadt und ihrer Einwohnerzahl stehenden Verkehr. Die mißlichen hygienischen Zustände wurden mehr und mehr unerträglich, als die Stadt im Verlauf von 40 Jahren sich in ihrer Bevölkerungszahl verfünffachte, aber nur wenig an räumlicher Ausdehnung zunahm. — Gnesen ist an sich kein ungesunder Ort, aber eingeschleppte Seuchen finden darin einen ungewöhnlich guten Nährboden und vermögen sich lange zu halten. 1878 und 1881 herrschte Flecktyphus in größerem Umfang, 1884 und 1889 Pocken, 1849, 1852 und 1866 die Cholera, wiederholt die Ruhr, 1902 und 1903 Scharlach; die für Gnesen charakteristische Krankheit aber ist der Unterleibstyphus, welcher in den Jahren 1902–1904 in stärkern Epidemien auftrat.

Nach Versorgung der Stadt mit gutem, aus Tiefbrunnen stammendem Leitungswasser 1888 entschloß sich die Stadtverwaltung, sich der Abfall-

1) Referat Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. p. 786.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. [illegible] ff.

stoffe mittelst des biologischen Verfahrens zu entledigen. Wenn man von den nur bei hohem Wasserstand in Tätigkeit tretenden Notauslässen am Zeloneksee, bezw. dem Verbindungsgraben zwischen den beiden obengenannten Seen absieht, gelangen alle Abwässer, Schmutzwässer und geringern Regenmengen aus dem für die doppelte Einwohnerzahl ausreichenden Kanalnetz mit natürlichem Gefälle in die Kläranlage nördlich des Kreuzsees. Die Kläranlage reinigt die Abwässer zuerst mechanisch, dann biologisch und besteht im wesentlichen aus einer Vorkammer, 4 überdeckten Absatzkammern und den Tropfkörpern sowie den maschinellen Anlagen zur Entfernung des Schlamms aus den Absatzkammern. Die Vorkammer enthält einen eisernen Sandfang für grobe Sinkstoffe und einen schrägliegenden Rechen mit 15 mm Schlitzweite. In den Sandfang ist ein elektrisch betriebener Eimerbagger eingebaut, durch welchen von Zeit zu Zeit die Ablagerungen nach einem Ablaß mit untergestellten Wagen befördert werden. Die vom Rechen durch einen eisernen Kratzer entfernten Gegenstände werden durch ein Transportband gleichfalls in Wagen befördert. An die Vorkammer schließen sich 4 nebeneinanderliegende überwölbte Absatzkammern mit je 35 m Nutzfläche. Der durch Schieber regulierbare Abfluß aus den Kammern erfolgt durch eine durchlöcherte Wand mit 4—25 mm weiten Löchern, welche ruhige Bewegung des Wassers bezwecken und gleichzeitig als Sieb zum Auffangen der sich bildenden Schwimmdecke dienen. Gegen Frost sind die Becken durch Ueberdecken mit Erde geschützt, Licht erhalten sie durch einige mit Prismenglas bedeckte Oeffnungen im Scheitel der Gewölbe. Der in den Kammern sich bildende Schlamm wird ausgepumpt und findet in der Landwirtschaft Verwendung. Das Wasser schlägt im Sedimentierbecken ca. 70 Proz. seiner ungelösten Stoffe nieder. So vorgereinigt fließt das Wasser durch die durchlochte Wand gleichmäßig in eine 1 m breite Sammelrinne, von welcher aus es mittelst durchlochter Zinkröhren auf die Tropfkörper verteilt wird. Diese letztern, die Oxydationskörper, der wichtigste Teil der Anlage, bestehen aus Schlacke und Koks, sind trapezförmig, unten 8, oben 6 m breit; auf einer 1,23 m dicken Schicht von großem Koks ruhen nach Art der Frischwasserfilter immer feiner werdende Koksschichten von 0,30, 0,20 und 0,15 m Dicke, deren letzte eine 20 cm dicke Sandschicht trägt. Unter jedem Tropfkörper ist eine mit durchlochten Betonplatten abgedeckte Rinne, in welche das auf die geneigte Sohle abtropfende Wasser abläuft. Die 6 m breite Oberfläche der Tropfkörper ist als Dunbarsche Schale hergestellt, in welcher die vorerwähnten Zinkröhren liegen. Die Tropfkörper sind möglichst durchlässig gebaut und enthalten außerdem noch von oben nach unten, sowie von rechts nach links ziehende Ziegelsteinröhren, so daß von allen Seiten Sauerstoff zu dem herabfließenden Wasser gelangt. Jeder Tropfkörper ist 33,5 m lang und oben 6 m breit; er besitzt 200 qm Filterfläche für das abfließende Wasser, welches sich in eine 1 m breite Rinne ergießt, um von da in das Gnesener Fließ zu gelangen, nachdem es noch eine Anlage durchströmt hat, in welcher es bei Epidemien mit Kalkmilch vermischt und durch maschinelle Einrichtungen gründlich durchgeschüttelt werden kann.

Hammerschmidt schildert nun den Betrieb der Kläranlage und sodann seine Untersuchungen darüber, was die Kläranlage gegenwärtig leistet und welchen Einfluß sie auf das Gewässer Gnesens, das Gnesener Fließ mit seinen Seen, bisher geleistet hat. Die Untersuchungen des

ologische. Bei letztern wurde einmal die Keimzahl im ganzen mittelst Nährgelatine festgestellt, sodann aber der Gehalt an Colibacillen, welche nach dem Verfahren von Eijkmann bestimmt wurden: Gärungskölbchen wurden mit mittelst einer Vorratslösung auf einen Gehalt von 1 Proz. Traubenzucker, 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz gebrachtem Wasser gefüllt und dann bei 46° im Brutschrank gehalten; bei dieser Temperatur starben fast alle andern Bakterien ab. Enthält das Wasser vom Menschen oder Warmblüter (nicht von Fischen oder Amphibien) herstammende Colibacillen, so bildet sich im Gärungsröhrchen binnen 24 Stunden Trübung und Gas. Colibacillen von Fischen und Fröschen wachsen und vergären bei 46° nicht. Die Reaktion ist so fein, daß es Hammerschmidt noch gelang, in einer Verdünnung von 1:1 000 000 000 (1 Normalöse:50 cbm Wasser), wobei 1—2 Keime auf 10 ccm Wasser kamen, menschliche Colibacillen nachzuweisen.

Ein Referat über die Untersuchungen würde hier zu weit führen, erwähnt sei nur folgendes: Es wurde nachgewiesen, daß Colibakterien in größern Mengen lebensfähig die Faulkammern verlassen und ungeschädigt durch die Tropfkörper hindurchgehen. Es liegt deshalb unstreitig auch die Möglichkeit vor, daß andere Darmbakterien wie Typhus, Paratyphus, Cholera und Ruhr trotz ihrer geringen Widerstandsfähigkeit und naturgemäß noch sicherer Tuberkelbacillen und Milzbrandsporen gelegentlich die Oxydationskörper lebend verlassen und in einen zu wirtschaftlichen Zwecken benutzten Wasserlauf gelangen können. Obwohl sie hier in der Regel bald zu Grunde gehen werden, würde doch das Wasser Epidemien herbeizuführen vermögen. Schill (Dresden).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 4. Dezember 1907.



Fig. 1.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 2.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Referate.

Bredig, Anorganische Fermente und organische Enzyme. (Chemiker-Zeitung. 1907. No. 15.)

Verf. tritt in einer Polemik gegen Bokorny dafür ein, daß er wohl berechtigt sei, von „anorganischen Fermenten“ zu sprechen, und daß tatsächlich Analogien zwischen diesen und den organischen Enzymen bestehen. So wird z. B. die Platinkatalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch die Protoplasmagifte Hydroxylamin und salpetrige Säure geschwächt. Die Erscheinung der „Vergiftung“, d. h. die Herabminderung der Aktivität durch sehr geringe Mengen bestimmter Zusätze, ist im großen und ganzen organischen und anorganischen Enzymen gemeinsam. Br. gibt der Ueberzeugung Ausdruck, „daß die kolloidalen Metallsole in vielen Beziehungen wenigstens als anorganische Modelle der organischen Enzyme zu betrachten seien. Diese Modelleigenschaften erhalten die kolloidalen Metalllösungen hauptsächlich wegen der folgenden Eigenschaften: 1) wegen ihrer starken katalytischen Fähigkeiten, 2) wegen ihres kolloidalen, oft sehr labilen Zustandes mit ungeheurer Oberflächenentwickelung, welcher oft irreversible Veränderungen erleiden kann, 3) wegen ihrer Fähigkeit, gewisse Stoffe chemisch durch Komplexbildung u. s. w. oder durch Adsorption zu binden.

Vogel (Bromberg).

Grüß, Abhandlungen über Enzymwirkungen. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1907. Heft 2.)

Verf. stellt durch Versuche mit Guajaklösung an verschieden behandelten Kartoffelscheiben fest, daß in den ruhenden, stärkeführenden parenchymatischen Zellen ein Körper mit oxydasischen Eigenschaften sich findet, welcher durch Erwärmen in Alkohol leicht zerstört wird. Auch in anderer Weise mit Hilfe der Gasanalyse durchgeführte Versuche ergaben, daß durch eine Behandlung mit Alkohol und Aether die oxydierenden Enzyme der Kartoffelknolle geschädigt werden. Es tritt hierbei auch ein Unterschied der Herkunft der Oxydasen insofern hervor, als in der Rinde der Kartoffelknolle befindliche ohne ihre Wirkung zu verlieren, in Alkohol auf 78° erhitzt werden können, wogegen die Parenchymmasse durch den gleichen Vorgang auffallend in ihrer Fähigkeit, Sauerstoff aufzunehmen, beschränkt wird. Da auch bei anderen Untersuchungsmethoden, so bei Zersetzung von Wasserstoffperoxyd u. s. w., ein verschiedenes Verhalten der „Rindenoxydase“ und der „Parenchymoxydase“ sich zeigt, so weist Verf. ausdrücklich auf diesen Untschied hin, ohne jedoch zunächst entscheiden zu wollen, ob es sich um zwei verschiedene Enzyme handelt, oder nur um das gleiche, aber in der Rinde verschiedener Bedingungen halber anders als im Parenchym wirkende.

Weiter fand Verf. im Ursoltartrat ein Mittel, in Verbindung mit Wasserstoffperoxyd Peroxydasen nachzuweisen. Ueber die Methodik und ihre Erfolge hier zu berichten, würde zu weit führen. Ebenso seien die sich anschließenden Untersuchungen über das Verhalten des Wundrandes von Kartoffelknollen in Bezug auf Enzyme hier nur erwähnt; so z. B.

das Ergebnis, daß bei der Bildung von Wundperiderm als erste Aenderung eine verstärkte Oxydasereaktion auftritt, und mit zunehmender Wundkorkbildung die Oxydasen und Peroxydasenreaktion an den Wundstellen immer intensiver wird. Ehrenberg (Breslau).

Kostytschew, S., Zur Frage der Wasserstoffbildung bei der Atmung der Pilze. (Ber. D. Bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 178—188.)

Von Müntz war die Behauptung aufgestellt worden, daß Wasserstoffausscheidung nur bei Mannit führenden Pilzen und zwar bei Sauerstoffausschluß vorkommt. Kostytschew weist nun nach, daß diese Beobachtung auf unrichtiger Versuchsanstellung beruht. Reinkulturen mit Penicillium glaucum ergaben, daß die normale und anaërobe Atmung des mit Mannit ernährten Pilzes ohne Wasserstoffausscheidung erfolgt. Das gleiche Resultat lieferten Versuche mit Agaricus campestris. Die von Müntz beobachtete Wasserstoffausscheidung ist auf die gleichzeitige Tätigkeit von Bakterien zurückzuführen.

Neger (Tharandt).

Kostytschew, S., Ueber anaërobe Atmung ohne Alkoholbildung. (Berichte D. Bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 188—191.)

Verf. untersuchte die Produkte der anaëroben Atmung von Agaricus campestris und fand, daß sich darin keine Spur von Alkohol befand. Diese Angabe widerspricht den Erfahrungen von Müntz, welcher bei der anaëroben Atmung von A. campestris eine Vergärung des Mannits unter Bildung von Alkohol und Wasserstoff beobachtet haben will, wobei als Reaktion für den Nachweis der Alkoholbildung die Jodoformprobe diente. Verf. führt aus, daß diese Reaktion zum Nachweis des Alkohols nur mit größter Vorsicht benutzt werden darf.

Neger (Tharandt).

Iunitzky, N., Ueber Zymase aus Aspergillus niger. (Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 210—213.)

Der Preßsaft von Kulturen von Aspergillus niger wurde einerseits direkt auf Alkoholgehalt geprüft (Resultat negativ), andererseits mit Traubenzucker versetzt. In letzteren Fällen ergab sich mittels der Jodoformprobe ein beträchtlicher Gehalt an Alkohol. Hieraus resultiert, daß die bei vollem Luftzutritt gezüchteten Mycelien von Aspergillus niger stets eine gewisse Menge von Zymase enthalten. Neger (Tharandt).

Miehe, Ueber Selbsterhitzung. (Medic. Klinik. Bd. XVIII. 1907.)

Zur Selbsterwärmung von Substanzen, wie Heu, Laub, Tabak, Preßrückstände u. s. w. durch biologische Prozesse sind folgende Bedingungen notwendig: Genügende Größe der Masse, ein gewisser Feuchtigkeitsgehalt und lösliche organische Nährstoffe bei Zutritt von Sauerstoff. Die Heuerhitzung bis zu 40° wird durch ein Stäbchenbakterium, Bacillus coli forma foenicola, verursacht, welches bei höheren Temperaturen durch den Bacillus calfactor abgelöst wird, bis schließlich durch Ueberhitzung und daneben durch bakterizide Stoffe eine Selbststerilisation eintritt. Außer den erwähnten Bakterien kommen noch verschiedene Schimmelpilze hinzu, die ausschließlich auf hohe Temperaturen angewiesen sind. Praktische Nutzanwendung findet die Selbsterhitzung z. B. bei der Braunheubereitung. Meyer (Saarbrücken).

Peters, Die Wasserversorgungsfrage der Stadt Magdeburg. (Zeitschrift für Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 400.)

Die Stadt Magdeburg entnahm ihren Bedarf an Trinkwasser der Elbe bis Ende der 80er Jahre, ohne daß größere Mißstände fühlbar wurden. Mit steigender Bevölkerungszahl im oberen Stromgebiet und der Elbe anwachsender Industrie (Soda- und Kalifabrikation, Bergbau, Zuckerfabriken), welche ihre Abwässer in die Elbe abgab, trat eine fortschreitende Verschmutzung des Elbwassers ein. Im Januar 1892 erhielten die Schächte bei Eisleben die unterirdischen Abflüsse des salzigen Oberröblinger Sees, deren sie sich durch Abpumpen in die Saale entledigten. Durch den täglichen Zufluß von 200000—300000 Zentnern Salz wurde das Elbwasser selbst für Kaffeebereitung ungenießbar; ebenso für Brauereien und andere Industrien sowie für Dampfkessel unbrauchbar. Zu diesem Uebel kam dann die Choleraepidemie in Nietleben, welche auf Verseuchung der Saale zurückgeführt wurde: Gründe genug, die Stadt zur Umschau nach anderer Wasserversorgung zu veranlassen. Es bestehen aber in Magdeburg 2 Parteien, deren eine die Elbwasserversorgung verbessert wissen will, während die andere Grundwasserversorgung anstrebt. Peters schildert nun die jetzt bestehende Anlage und die in Frage kommenden Projekte mit ihren hygienischen Vorzügen und Nachteilen und tritt dann der Frage näher, ob und inwieweit es möglich ist, sich schon jetzt für eine bestimmte Anlage zu entscheiden. In Uebereinstimmung mit Schertel, Straßner, Aufrecht, Rabner und Unverricht kommt Peters zu dem Schluß, daß das Elbwasser wegen seiner ungünstigen chemischen Beschaffenheit als Trinkwasser für Magdeburg ungeeignet sei, da es weder durch Filtration noch durch Ozonisierung chemisch zu beeinflussen ist und man ein Verbessern der chemischen Beschaffenheit nur durch eine schwere Schädigung der Industrie würde erreichen können. Bakteriologisch leisten die städtischen Filter, was man überhaupt von einer Filteranlage erwarten darf; die Möglichkeit, daß Krankheitserreger und Typhusbacillen in die Leitung gelangen, ist nicht ausgeschlossen. Unangenehm ist weiter die wechselnde Temperatur des filtrierten Elbwassers je nach der Außentemperatur.

Eine Grundwasserversorgung der Stadt aus der etwa 10 km breiten Elbniederung zu beiden Seiten der Elbe oder der „Börde“, westlich von Magdeburg erwies sich als ebenso ungeeignet, wie eine Oberflächenwasserversorgung aus einer Talsperre im Bodetal oder aus dem Plauer See. Dagegen wies Prof. Beyschlag auf ein für die Grundwasserversorgung geeignetes Gebiet hin: am Nordrand des Flämings, am Südrand des südlich von Genthin gelegenen Finer Bruchs. Baurat Thiem berechnete nach Anlegung von auf 14 km mit je 1 km Entfernung verteilten 15 Bohrlochgruppen aus dem Gefälle, der Breite und der Ergiebigkeit der wasserführenden Schichten eine Gesamtergiebigkeit des dortigen Feldes auf 200000 cbm pro Tag. Die Kosten der Gesamtanlage würden 8 Millionen Mark betragen, wovon 5 auf die 50 km lange Rohrleitung entfallen würden. Die chemischen Eigenschaften bieten keinen Grund, das Finer Bruchwasser zu beanstanden. Die Enteisenung bietet keine Schwierigkeiten und vor einem Auftreten von Mangan, wie in Breslau, auf welche Kalamität Schreiber näher eingeht, glaubt man gesichert zu sein. Eine annähernde Keimfreiheit dieses Grundwassers ist anzunehmen, obgleich die aus den unvollkommenen Probebrunnen entnommenen Wasserproben bis zu 194 Keime zeigten (bei je 1 Brunnen

194 bezw. 124 bezw. 111, bezw. 8 Keime, die anderen schwankten zwischen 12 und 72).

Die rein hygienische Seite der Wasserfrage für Magdeburg spricht für die Grundwasserversorgung vom Südrand des Finer Bruchs trotz einzelner Mängel.

Die jetzt neben der zentralen Wasserversorgung bestehenden zahlreichen Pumpbrunnen in Magdeburg will Peters nach Errichtung einer guten Wasserleitung geschlossen wissen, wegen der Möglichkeit gelegentlicher Infektionen dieses Wassers und um die neue Wasserversorgungsanlage rentabel zu machen. (Letzteres läßt sich trotz der für etwaige Notfälle der Erhaltung werten alten Brunnen durch obligatorische Einführung eines städtischen Wasserzinses nach der Zimmerzahl jeden Hauses oder nach der Wasseruhr unter Festsetzung eines zu bezahlenden Verbrauchsminimums erreichen. Der Ref.) Schill (Dresden).

Falcioni, D., I germi termofili nelle acque del Bullicame. (Arch. di farmacol. sperim. 1907. No. 1.)

Die Thermenwasser sind ein günstiges Medium für die Erhaltung der thermophilen Keime. Verf. hat nun die Gegenwart derselben in den Wassern des Bullicame di Viterbo, die eine Temperatur von ca. 60—63° aufweisen, feststellen wollen. Dabei hat er drei Keimtypen isoliert, die er B. thermophilus I, II, III nannte. Alle diese 3 Keime haben folgende Eigentümlichkeiten gemein: Bei 22° C keine Entwickelung, bei 37° langsames Wachstum, Entwickelungsoptimum bei 60° C, polymorphe Aërobier, Sporenbildner, verschiedener Größe, gramresistent, keine Entwickelung auf Kartoffeln, äußerst wärmeresistent.

Jede der 3 Typen hat dann aber auch unterscheidende Merkmale, die, wie folgt, zusammengefaßt werden können:

Keime	Agarkolonieen	Trübung d. Brühe	Koagulation der Milch	Triptophane Reaktion	Bewegung
Bac. thermophil. I	buschartig	+	—	—	—
„ „ II	ähnlich wie die des Milzbrands	—	+	+	+
„ „ III	wie Tautropfen	—	—	+	—

Diese Eigentümlichkeiten sind noch nicht von Anderen hervorgehoben worden. Die Beschreibung neuer Formen ist eine bei diesem Thema stets wiederkehrende Tatsache, was einen neuen Beweis abgibt für die große Verbreitung der thermophilen Keime in der Natur.

Ceradini (Mailand).

Korschun, S., Ueber die Bestimmung des Sauerstoffes im Wasser nebst einigen Beobachtungen über Sauerstoffzehrung. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. p. 324).

K. sieht mit Spitta in der Bestimmung der Sauerstoffzehrung im Wasser gewissermaßen eine Kombination des quantitativen bakteriologischen und chemischen Nachweises der organischen Substanzen. „Die Sauerstoffzehrung im Wasser erweist sich als sehr viel empfindlicherer Maßstab zum Bemessen des Verunreinigungsgrades des Flusses durch organische Stoffe, als die Bestimmung des augenblicklichen Sauerstoff-

gehaltes. Mit der Methode von Ramsay und dem Tenax-Apparat von Müller hat K. keine befriedigenden Resultate erzielt; er benützte deshalb das Winklersche Verfahren in der Modifikation von Chlopin (beschrieben im Arch. f. Hyg. Bd. XXVII. p. 18 und Bd. XXXII. p. 294).

Hirschbruch (Metz).

Hewlett, R. T. and **Barton, G. S.**, The results of a chemical, microscopical and bacteriological examination of samples of London milk. (Journal of Hygiene. Vol. VII. p. 22—31.)

Nach London kommt die Milch aus 26 Grafschaften. Die Stichproben werden jeden Morgen entnommen und chemisch, mikroskopisch und kulturell untersucht. Konservierungsmittel wurden nicht gefunden. Die Keimzahl schwankte zwischen 20000 und über 8 Millionen. Coli wurde in 46 Proz., Enteritis sporogenes in 60 Proz. der Proben nachgewiesen, säurefeste Stäbchen nur einmal (mikroskopisch).

Kißkalt (Berlin).

Brown, Certified milk in small cities. (Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. XLVIII. 1907. No. 7.)

Verf. schildert, wie es in Elmira gelungen ist, gute Milch zu verschaffen. Ein berühmter Pädiater sagte in einem Vortrage, wenn in einer Stadt 5—6 Aerzte gute Milch haben wollten, sie könnten sie auch haben. Diese 5—6 fanden sich eben in Elmira. Es konstituierte sich eine „Milchkommission“. Aber die Bemühungen waren keine geringen. Aufforderungen an Farmer in Zirkularen blieben erfolglos. Auch persönliche Interventionen führten lange zu keinem Resultate. Endlich wurde eine Farmerin gefunden, die sich bewegen ließ, gute, den Vorschriften der Kommission entsprechende Milch zu bereiten. Dies war der Anfang.

Verf. betont nochmals: Elmira ist keine besonders gesunde Stadt; auch die Einwohner sind nicht intelligenter als anderswo; auch die Aerzte nicht gescheiter und geschickter, aber es fanden sich eben die 5—6, die eine gute Milch haben wollten. Bouček (Prag).

Hansteen, Ein Beitrag zur Kenntnis der Korrelationen im pflanzlichen Stoffwechsel. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1907. Heft 2.)

Verf. ging bei seinen Untersuchungen von der Anschauung aus, es sei ohnehin anzunehmen, daß die in den verschiedenen Organen der Pflanzen zu jeder Zeit enthaltenen Mengen jedes einzelnen der notwendigen Aschenbestandteile nicht allein von einer innerhalb gewisser Grenzen liegenden Größe sind, sondern auch untereinander in bestimmten und allseitigen Beziehungen stehen, deren Werte sich mit der fortschreitenden Entwickelung gesetzmäßig und gleichsinnig verschieben.

Unter Verwendung einer Anzahl von eigenen Untersuchungen und umfassender Benutzung neuer und alter Literatur über Aschenanalysen kommt Verf. nun zu folgenden Sätzen für den Verlauf und die Bedingungen des anorganischen Stoffwechsels einer normal gedeihenden Pflanze:

Bei normalen, gewöhnlichen Ernährungsbedingungen wird bei jeder Pflanze Aufnahme, Wanderung und Festlegung der unentbehrlichen Aschensubstanzen jederzeit derart reguliert, daß

erstens jeder von diesen in jeder Zelle bezw. jedem Organ in einer optimalen Menge zugegen ist;

194 bezw. 124 bezw. 111, bezw. 8 Keime, die anderen schwankten zwischen 12 und 72).

Die rein hygienische Seite der Wasserfrage für Magdeburg spricht für die Grundwasserversorgung vom Südrand des Finer Bruchs trotz einzelner Mängel.

Die jetzt neben der zentralen Wasserversorgung bestehenden zahlreichen Pumpbrunnen in Magdeburg will Peters nach Errichtung einer guten Wasserleitung geschlossen wissen, wegen der Möglichkeit gelegentlicher Infektionen dieses Wassers und um die neue Wasserversorgungsanlage rentabel zu machen. (Letzteres läßt sich trotz der für etwaige Notfälle der Erhaltung werten alten Brunnen durch obligatorische Einführung eines städtischen Wasserzinses nach der Zimmerzahl jeden Hauses oder nach der Wasseruhr unter Festsetzung eines zu bezahlenden Verbrauchsminimums erreichen. Der Ref.) Schill (Dresden).

Falcioni, D., I germi termofili nelle acque del Bullicame. (Arch. di farmacol. sperim. 1907. No. 1.)

Die Thermenwasser sind ein günstiges Medium für die Erhaltung der thermophilen Keime. Verf. hat nun die Gegenwart derselben in den Wassern des Bullicame di Viterbo, die eine Temperatur von ca. 60—63° aufweisen, feststellen wollen. Dabei hat er drei Keimtypen isoliert, die er B. thermophilus I, II, III nannte. Alle diese 3 Keime haben folgende Eigentümlichkeiten gemein: Bei 22° C keine Entwickelung, bei 37° langsames Wachstum, Entwickelungsoptimum bei 60° C, polymorphe Aërobier, Sporenbildner, verschiedener Größe, gramresistent, keine Entwickelung auf Kartoffeln, äußerst wärmeresistent.

Jede der 3 Typen hat dann aber auch unterscheidende Merkmale, die, wie folgt, zusammengefaßt werden können:

Keime	Agarkolonieen	Trübung d. Brühe	Koagulation der Milch	Triptophane Reaktion	Bewegung
Bac. thermophil. I	buschartig	+	—	—	—
„ „ II	ähnlich wie die des Milzbrands	—	+	+	+
„ „ III	wie Tautropfen	—	—	+	—

Diese Eigentümlichkeiten sind noch nicht von Anderen hervorgehoben worden. Die Beschreibung neuer Formen ist eine bei diesem Thema stets wiederkehrende Tatsache, was einen neuen Beweis abgibt für die große Verbreitung der thermophilen Keime in der Natur.

Ceradini (Mailand).

Korschun, S., Ueber die Bestimmung des Sauerstoffes im Wasser nebst einigen Beobachtungen über Sauerstoffzehrung. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. p. 324).

K. sieht mit Spitta in der Bestimmung der Sauerstoffzehrung im Wasser gewissermaßen eine Kombination des quantitativen bakteriologischen und chemischen Nachweises der organischen Substanzen. „Die Sauerstoffzehrung im Wasser erweist sich als sehr viel empfindlicherer Maßstab zum Bemessen des Verunreinigungsgrades des Flusses durch organische Stoffe, als die Bestimmung des augenblicklichen Sauerstoff-

gehaltes. Mit der Methode von Ramsay und dem Tenax-Apparat von Müller hat K. keine befriedigenden Resultate erzielt; er benützte deshalb das Winklersche Verfahren in der Modifikation von Chlopin (beschrieben im Arch. f. Hyg. Bd. XXVII. p. 18 und Bd. XXXII. p. 294).

Hirschbruch (Metz).

Hewlett, R. T. and **Barton, G. S.,** The results of a chemical, microscopical and bacteriological examination of samples of London milk. (Journal of Hygiene. Vol. VII. p. 22—31.)

Nach London kommt die Milch aus 26 Grafschaften. Die Stichproben werden jeden Morgen entnommen und chemisch, mikroskopisch und kulturell untersucht. Konservierungsmittel wurden nicht gefunden. Die Keimzahl schwankte zwischen 20000 und über 8 Millionen. Coli wurde in 46 Proz., Enteritis sporogenes in 60 Proz. der Proben nachgewiesen, säurefeste Stäbchen nur einmal (mikroskopisch).

Kißkalt (Berlin).

Brown, Certified milk in small cities. (Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. XLVIII. 1907. No. 7.)

Verf. schildert, wie es in Elmira gelungen ist, gute Milch zu verschaffen. Ein berühmter Pädiater sagte in einem Vortrage, wenn in einer Stadt 5—6 Aerzte gute Milch haben wollten, sie könnten sie auch haben. Diese 5—6 fanden sich eben in Elmira. Es konstituierte sich eine „Milchkommission". Aber die Bemühungen waren keine geringen. Aufforderungen an Farmer in Zirkularen blieben erfolglos. Auch persönliche Interventionen führten lange zu keinem Resultate. Endlich wurde eine Farmerin gefunden, die sich bewegen ließ, gute, den Vorschriften der Kommission entsprechende Milch zu bereiten. Dies war der Anfang.

Verf. betont nochmals: Elmira ist keine besonders gesunde Stadt; auch die Einwohner sind nicht intelligenter als anderswo; auch die Aerzte nicht gescheiter und geschickter, aber es fanden sich eben die 5—6, die eine gute Milch haben wollten. Bouček (Prag).

Hansteen, Ein Beitrag zur Kenntnis der Korrelationen im pflanzlichen Stoffwechsel. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1907. Heft 2.)

Verf. ging bei seinen Untersuchungen von der Anschauung aus, es sei ohnehin anzunehmen, daß die in den verschiedenen Organen der Pflanzen zu jeder Zeit enthaltenen Mengen jedes einzelnen der notwendigen Aschenbestandteile nicht allein von einer innerhalb gewisser Grenzen liegenden Größe sind, sondern auch untereinander in bestimmten und allseitigen Beziehungen stehen, deren Werte sich mit der fortschreitenden Entwickelung gesetzmäßig und gleichsinnig verschieben.

Unter Verwendung einer Anzahl von eigenen Untersuchungen und umfassender Benutzung neuer und alter Literatur über Aschenanalysen kommt Verf. nun zu folgenden Sätzen für den Verlauf und die Bedingungen des anorganischen Stoffwechsels einer normal gedeihenden Pflanze:

Bei normalen, gewöhnlichen Ernährungsbedingungen wird bei jeder Pflanze Aufnahme, Wanderung und Festlegung der unentbehrlichen Aschensubstanzen jederzeit derart reguliert, daß

erstens jeder von diesen in jeder Zelle bezw. jedem Organ in einer optimalen Menge zugegen ist;

zweitens, daß diese verschiedenen Optima, die den besonderen Bedürfnissen gemäß auch spezifisch sind für die Art und Varietät, für die einzelnen Organe, für die Entwickelungsstufe, und endlich, was die einzelnen Elemente anbelangt, doch immer durch die ganze Pflanze in bestimmten, gegenseitigen Verhältnissen und Beziehungen stehen.

Auch in Bezug auf die zwischen den einzelnen, optimalen Mengen bestehenden Quantitätsunterschiede nimmt Verf., der diese als „Intervalle" bezeichnet, an, daß alle Organe einer Pflanze bis zum Lebensende korrelativ verknüpft sein müssen.

Aus diesen Anschauungen, und der den „Intervallen" zuerkannten Stellung leitet Verf. dann noch verschiedene Ansichten ab, deren Diskussion hier zu weit führen würde, und die daher im Original verglichen sein mögen.

(Verf. würde durch weiteres selbstgewonnenes Beobachtungsmaterial, das sich auf umfassende Paralleluntersuchungen unter den verschiedensten Ernährungs- und Wachstumsbedingungen erzogener Pflanzen stützte, seiner Arbeit wohl einen wesentlich größeren Nachdruck haben verleihen können, zumal dieselbe auch in anderer Beziehung Einwänden begegnen dürfte. Wenigstens ist, was z. B. die analytische Verarbeitung anbelangt, zu betonen, daß für Phosphorsäurebestimmungen in Pflanzensubstanz schwerlich die Citratmethode, noch dazu ohne vorherige Abscheidung der Kieselsäure, als zulässig anzusehen sein dürfte.)

Ehrenberg (Breslau).

Köck, Noch einmal die Ißleibsche Saatgutimprägnation. (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1907. Heft 2.)

Verf. hatte in einer früheren Abhandlung (vgl. diese Zeitschrift Bd. XVII. p. 269) die Ißleibsche Saatgutimprägnation geprüft, und ebenso wie Kambersky (vgl. diese Zeitschrift, Bd. XVII. p. 268) im allgemeinen mit ihr nur ungünstige Erfahrungen gemacht. Doch schien insofern noch eine weitere Prüfung notwendig, als bei Rüben z. B. Freilandversuche zu andern Ergebnissen geführt hatten, als die in Keimkästen angestellten Untersuchungen.

Es wurden nun wieder in Keimkästen, aber auch gleichzeitig im Freiland Versuche mit unbehandelten, nur in Wasser gequellten, und nach Ißleib behandelten Sämereien der gebräuchlichsten Arten ausgeführt. Als Ergebnis war zu verzeichnen, daß die Ißleibsche Methode im Freiland bei weitem nicht so ungünstig wirkte, wie in Keimkästen. Immerhin fand bei allen untersuchten Sorten eine namhafte, teilweise sogar eine äußerst bedeutende Abnahme der Keimfähigkeit durch dieselbe auch im freien Felde statt. Bloße Wasserquellung schädigte hier teils wenig, teils wirkte sie sogar nützlich, wogegen sie in Keimkästen stets schwache Schädigung bedingte. Jedenfalls kann nach Verf. die Anwendung der Ißleibschen Saatgutimprägnation nicht empfohlen werden.

Ehrenberg (Breslau).

Laschke, Einige vergleichende Untersuchungen über den Einfluß des Keimbettes, sowie des Lichtes auf die Keimung verschiedener Sämereien. (Landwirtschaftliche Versuchsstationen. 1907. p. 295.)

Verf. führt verschiedene Beispiele für die Bedeutung der Wahl des Keimbettes bei minder keimfähigen Sämereien an, aus denen die besondere Bedeutung des Sandkeimbettes hervorgeht. Nachdem die Ver-

hältnisse für feine Sämereien, ferner für Lupinen besprochen, wird der besonders für die Keimung von Poa pratensis hochbedeutungsvolle Einfluß des Sonnenlichtes festgestellt; auch bei Anthoxantum wirkt Sonnenlicht stark keimungsfördernd. Ehrenberg (Breslau).

Lilienthal, Wo ist Brachhaltung am Platze? (Deutsche landw. Presse. 1906. No. 84.)

Es ist eine allbekannte Tatsache, daß Brachbearbeitung den Fruchtbarkeitszustand des Bodens vorteilhaft beeinflußt. Die Ursachen, auf welche die günstige Wirkung dieses uralten Kulturverfahrens zurückzuführen sind, sind aber noch nicht genügend aufgeklärt. Trotzdem kann aber die praktisch wichtigere Frage: „Wo ist Brachhaltung am Platze?" schon jetzt in präziser Weise beantwortet werden. Verf. tut dies in folgender Weise: Wo extensive Wirtschaftsweise geboten ist, sich also bei hohen Arbeitslöhnen ein Mangel an Arbeitskräften bemerkbar macht, die Bodenprodukte niedrig im Preise sind, der Boden billig ist, das Klima der Verunkrautung Vorschub leistet, wird man mit vollem Rechte von der Brache regelmäßig Gebrauch machen. Es gibt schwere, tonige, feuchtgelegene Böden, welche nur durch periodische Brachhaltung zur landwirtschaftlichen Kultur herangezogen werden können. In manchen Gegenden ist es unmöglich, den schweren Boden ohne Brache von Unkraut frei zu halten und die erforderliche Gare und Krümelstruktur zu erzielen. Im nördlichen, besonders aber im nordöstlichen Deutschland, in rauhen Gebirgsgegenden, zumal am Nordabhange der Berge, sind die klimatischen Verhältnisse mancher Landstriche derart, daß der Boden nur durch die Brache in ordnungsmäßiger Weise für die Herbstsaaten vorbereitet werden kann. Auf Grund seiner Erfahrungen kommt Verf. zu dem Schlusse, daß in den erwähnten Fällen die richtig gegebene Schwarzbrache erhöhend auf den Gesamtertrag der Wirtschaft einwirkt, indem sie bei Verminderung der Produktionskosten die Erträge einer Reihe von Jahren derartig günstig beeinflußt, daß der Ausfall der Ernte im Brachjahre selbst mehr als reichlich aufgewogen wird.

Vogel (Bromberg).

v. Seelhorst, Wasserverdunstung und Wasserabfluß eines gebrachten Lehm- und Sandbodens. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. LIV. p. 313.)

Die aus den $1^1/_2$ Jahre lang fortgeführten Kastenversuchen des Verf. gewonnenen Zahlen zeigen, daß der Sandboden naturgemäß im allgemeinen mehr Drainwasser abgibt als der Lehmboden. Nur in einigen wenigen Fällen war infolge sehr starker Wasserverdunstung oder besonderer Frostverhältnisse das Umgekehrte der Fall.

Die Wasserverdunstung war fast stets auf dem Lehmboden größer als auf dem Sandboden. Es liegt dies daran, daß der Lehmboden die Niederschläge schwerer eindringen läßt, und daß er infolge der stärkeren Kapillarität bei trockenem Wetter das Wasser leichter und schneller nach oben leitet. Vogel (Bromberg).

Ehrenberg, Die Impfungsfrage in der Bodenbakteriologie. (Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 301.)

Verf. schildert zunächst die Entwickelung der Leguminosenimpfung seit 1887, aus welchem Jahre die Salfeldschen Versuche über die Anwendung von Impferde beim Leguminosenbau auf Hochmoorboden stammen. Der Gebrauch von Erde als Impfmaterial bereitete jedoch

in mancher Hinsicht Schwierigkeiten, und man war daher in der Folge bemüht, die Knöllchenbakterien der Hülsenfrüchte auf künstlichen Nährböden zu züchten und die erhaltenen Reinkulturen zur Impfung zu verwenden. Aus diesen Bestrebungen ist das „Nitragin“ von Nobbe und Hiltner hervorgegangen, das jedoch wegen seiner vielfach unsicheren Wirkung bald wieder von der Bildfläche verschwand. Aehnlich erging es dem „Alinit“ Carons, welches als bakteriologischer Impfdünger die Stickstoffversorgung der Nichtleguminosen begünstigen sollte. Die Alinitbakterien besaßen überhaupt nicht die Fähigkeit, den Luftstickstoff festzulegen. Aber auch die mit dieser Funktion ausgestatteten Azotobacter-Arten brachten bei ihrer Anwendung auf dem Felde (aus häufig dargelegten Gründen, siehe z. B. diese Zeitschr. Bd. IX. p. 887. Ref.) keinen Erfolg.

Die neueren Arbeiten Hiltners haben nun in der Frage der Hülsenfruchtimpfung einen Umschwung herbeigeführt. Es ist die Gewinnung eines Impfstoffs gelungen, welcher vor der Impferde eine Reihe von Vorzügen hat. Als feststehend kann angesehen werden, daß diese neueren Hiltnerschen Impfkulturen auf Neuland und auf Flächen, welche lange Zeit nicht mit der betreffenden Leguminose bebaut waren, mit Vorteil angewendet werden können. Dagegen reichen die bisher vorliegenden Versuchsresultate nach Ansicht des Verf. noch nicht aus zur Entscheidung der Frage, ob die Impfung von Hülsenfrüchten auch dann einen Gewinn bringt, wenn auf den betreffenden Feldern schon seit langem Leguminosenbau getrieben wird und daher gut angepaßte Knöllchenbakterien bereits im Boden vorhanden sind.

Vogel (Bromberg).

Ehrenberg, Neueres über die Nitrifikation und ihre Bedeutung. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1907. Stück 13.)

Verf. ist durch eigene Versuche zu der Ueberzeugung gelangt, daß bei der Nitrifikation nur dann Stickstoffverluste eintreten, wenn die Bedingungen für den glatten und vollständigen Verlauf dieses Vorganges keine durchweg günstigen sind, und es infolgedessen zur Anhäufung von Nitrit kommen kann. „Bei der Nitrifikation in ausreichend durchlüftetem Boden, bei genügender Gegenwart kräftiger Nitrifikationserreger, wie dies beides im normalen Ackerboden in der Regel der Fall sein dürfte, tritt kein Stickstoffverlust ein.“ Die durch zahlreiche Düngungsversuche erwiesene Geringerwertigkeit des Ammoniakstickstoffs gegenüber dem Salpeterstickstoff ist also nicht durch das Auftreten von Stickstoffverlusten bei der Umwandlung des Ammoniaks in Salpetersäure zu erklären.

Verf. bringt des weiteren Beiträge zu der Frage, ob und unter welchen Verhältnissen die höheren Pflanzen zur direkten Aufnahme von Ammoniakstickstoff befähigt sind. Auf schwach kalkhaltigem Sande ließ Ammoniak ohne Gegenwart von Nitrifikationserregern nur sehr kümmerliche Pflänzchen (Hafer) zur Entwickelung kommen, es war sogar eine direkte Schädigung zu beobachten. Die Ursache hierfür ist in der Aetzwirkung zu erblicken, welche das aus Ammoniumsulfat und kohlensaurem Kalk entstehende kohlensaure oder freie Ammoniak auf die Wurzeln ausübt. In solchen Fällen ist daher die Nitrifikation zu einer nutzbaren Verwertung der Ammoniakdüngung unerläßlich. „Die Pflanzen können zwar auch Ammoniaksalze direkt verbrauchen, werden aber bei Ausbleiben der Nitrifikation in kalkhaltigen Böden unter Aetzschädigungen der Wurzeln infolge entstehenden Ammoniumkarbonats leiden, in kalk-

freien Böden dagegen durch die physiologisch saure Eigenschaft der Ammoniaksalze benachteiligt.“ Vogel (Bromberg).

Eickemeyer, Die Impfung von Leguminosensamen nach dem Verfahren von Hiltner und Moore. (Fühlings landw. Ztg. 1907. p. 356.)

Verf. sucht eine Erklärung für die mancherlei Mißerfolge zu geben, welche bei Anwendung der Hiltnerschen Reinkulturen an manchen Orten zu Tage traten. Er nimmt speziell Bezug auf neuere Versuche des englischen Agrikulturchemikers Augustus Voelker, welcher weder mit dem deutschen (Hiltner) noch mit dem amerikanischen (Moore) Nitragin Impferfolge erzielen konnte. Der Grund liegt nach E.'s Ansicht darin, daß derartige Fragen durch Vegetationsversuche in Gefäßen nicht entschieden werden können. „Eine mit gleicher Genauigkeit und Sorgfalt auf freiem Ackerland angestellte Prüfung der beiden Impfverfahren hätte ihm (Voelker) jedenfalls ganz andere Resultate bei dem Impfverfahren nach Hiltner gebracht, negative Erfolge aber sicher bei dem von Dr. Moore-Washington.“ Bei der Mooreschen Methode kommen die Knöllchenbakterien an Watte angetrocknet zur Verwendung, es hat sich aber gezeigt, daß diese Organismen gegen das Austrocknen sehr wenig resistent sind, bei einer solchen Prozedur also zu Grunde gehen.

Vogel (Bromberg).

Heinze, Ueber die Stickstoffassimilation durch niedere Organismen. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXXV. p. 889.)

Verf. gibt unter Verwendung eigener Versuchsergebnisse einen Ueberblick über die Frage der Stickstoffsammlung durch niedere Organismen. Seine Ausführungen lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

Höhere Pilze sind nicht im stande, den freien Stickstoff der Luft zu binden. Wenn sie trotzdem für die im Boden vor sich gehende Stickstoffsammlung von Bedeutung sind, so beruht dies darauf, daß sie ähnlich wie die Algen für die eigentlichen Stickstoffsammler den Kohlenstoff in möglichst geeigneter Form zu liefern haben.

Die chlorophyllgrünen Algen sind nicht zu direkter Stickstoffassimilation befähigt. Einige Versuche mit Rohkulturen, welche reich an Cyanophyceen, besonders Nostoc-Formen waren, sprechen für eine diesen Organismen zuzuschreibende, allerdings sehr geringe Stickstoffassimilation.

Die ganz allgemein verbreiteten Azotobacter-Arten stellen die wichtigsten der bisher bekannten Stickstoffsammler dar. Verf. bringt eine Reihe von Angaben über das Verhalten dieser Organismen zu verschiedenen Nährstoffen und unter bestimmten äußeren Bedingungen, die jedoch wenig Neues enthalten. Eine für die Praxis bedeutsame Vermehrung und Pflege von Azotobacter kann außer durch geeignete Bodenbearbeitung auch durch Zugabe relativ geringer Mengen von Schwefelkohlenstoff erreicht werden, welcher die Säurebildner in ihrer Entwickelung hemmt und so bewirkt, daß die Bodennährstoffe den Azobacter-Arten reichlicher zur Verfügung stehen. „Von ganz besonderem Werte für Azobacter ist jedoch die Phosphorsäure in Form des zweibasischen Calciumsalzes bezw. des zweibasischen oder dreibasischen Kaliumsalzes, da sie ja eine der wichtigsten, wenn nicht überhaupt die allerwichtigste Vorbedingung für eine einigermaßen reichliche und üppige Entwickelung dieser stickstoffsammelnden Organismen bildet.“

Vogel (Bromberg).

Kaserer, Ueber einige neue Stickstoffbakterien mit autotropher Lebensweise. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 37.)

Verf. gibt in einer vorläufigen Mitteilung der Meinung Ausdruck, daß der Prozeß der Nitrifikation nicht unbedingt auf dem bisher allgemein angenommenen Wege, also in 2 Phasen, verlaufen müsse, sondern daß die Oxydation des Ammoniaks auch direkt bis zu Nitrat, unter Umständen auch bis zu elementarem Stickstoff erfolgen könne. Es ist ihm auch tatsächlich gelungen, Mikroorganismen zu isolieren, die solche Vorgänge einzuleiten vermögen. Unter Zugrundelegung der bei der Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien (diese Zeitschr. Bd. XVI. p. 681, 769) gewonnenen Erfahrungen hielt es Verf. für zweckmäßig, den Anreicherungskulturen eine geringe Menge Formaldehyd, das als primäres Assimilationsprodukt zu betrachten ist, zuzusetzen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Calciumkarbonat konnte schon aus der ersten Rohkultur ein von K. Bacillus nitrator genannter Spaltpilz isoliert werden, welcher Ammoniak direkt zu Nitrat oxydiert. Wie die bekannten Nitratbildner, so nitrifiziert auch dieser Organismus nur bei Abwesenheit von organischer Substanz.

Wurde nicht Calciumkarbonat, sondern Magnesiumoxyd zur Säurebindung in den Rohkulturen verwendet, so kam ein Mikrobe zur vorherrschenden Entwickelung, welcher vom Verf. Bacillus azotofluorescens genannt wurde, und der die Fähigkeit besitzt, Ammoniak unter Entbindung von freiem Stickstoff zu zersetzen. Verf. hält es für möglich, daß es in bestimmten Fällen unter Mitwirkung dieser Bakterien zu einer beachtenswerten Ammonzerstörung im Boden kommen kann, etwa dann, wenn sich große Mengen von Substanzen zersetzen, welche verhältnismäßig wenig Kohlenstoff und viel Stickstoff enthalten. Vielleicht ist die geringe Wirksamkeit der Gründüngung auf schwerem Boden zum Teil auf Ammoniakzersetzung zurückzuführen.

Bac. azotofluorescens ist nicht nur befähigt, Ammoniumkarbonat in Ameisensäure und Stickstoff zu zerlegen, sondern umgekehrt auch, unter Benutzung von Ameisensäure oder Zucker als Nährstoffquelle, Stickstoff zu binden. Impft man nämlich eine stickstofffreie Lösung von Natriumformiat mit Erde, so erhält man schon nach wenigen Tagen den Bac. azotofluorescens fast in Reinkultur.

Verf. schließt seine kurze Mitteilung mit der Angabe, daß er auch solchen Organismen auf der Spur sei, welche elementaren Stickstoff direkt zu nitrifizieren vermögen. Vogel (Bromberg).

Koch, Alfred, Ernährung der Pflanzen durch frei im Boden lebende stickstoffsammelnde Bakterien. (Mitt. d. deutsch. Landw.-Gesellsch. 1907. Stück 12.)

Verf. konnte eine analytisch nachweisbare Stickstoffbereicherung des Bodens durch Bakterientätigkeit feststellen, wenn er den fraglichen Organismen geeignete Kohlenstoffnahrung, z. B. Zucker, zur Verfügung stellte. Die Stickstoffsammler vermochten im besten Falle 10 mg N auf 1 g Zucker festzulegen, also etwa die gleiche Menge, welche durch Reinkulturen von Azotobacter in Nährlösungen gebunden werden kann. Daraus ergibt sich der wichtige Schluß, daß unter den vielleicht noch unbekannten stickstoffbindenden Bakterien unseres Bodens, welche Zucker als Kraftquelle benutzen, keine sind, die kräftiger N sammeln als Azotobacter.

Das Stickstoffbindungsvermögen eines Bodens ist in weitgehendem Maße von der Temperatur abhängig, in der kühlen Jahreszeit hört die Stickstoffassimilation vollständig auf. Eine Zugabe von Kalk beeinflußte die Stickstoffsammlung eher ungünstig wie günstig, auch Kali drückte die Stickstoffbindung herunter, dagegen wirkte Phosphorsäure fördernd auf diesen biologischen Vorgang ein. Schwefelkohlenstoffzusatz blieb ohne Einfluß, Eisensalze begünstigten die Entwickelung der stickstoffsammelnden Organismen. Melasse vermag, wahrscheinlich wegen ihres Gehaltes an Stickstoffverbindungen, ähnliche Wirkungen wie der Zucker nicht zu veranlassen. Unter den natürlichen Verhältnissen sind es zum Teil die Algen, zum Teil die Humusstoffe des Bodens, welche den stickstoffbindenden Bakterien die erforderliche Energie liefern.

Da die Festlegung des Stickstoffs in Form von Eiweiß erfolgt, so ist der assimilierte N zunächst für die höheren Pflanzen nicht aufnehmbar, es ergab sich jedoch, daß der gebundene Luftstickstoff verhältnismäßig rasch nitrifiziert wird. Beim Anbau von Pflanzen auf einem mit Zucker und ähnlichen Substanzen behandelten Boden treten zunächst starke Schädigungen auf, welche sich teils aus der physikalischen Verschlechterung des Bodens, teils aus der Bildung pflanzenschädigender Nebenprodukte erklären. Es ist daher zweckmäßig, nur die Nachwirkung solcher Düngungen auszunutzen, und Verf. tut dies, indem er erst in dem auf die Zuckerbehandlung folgenden Jahre Pflanzen auf den betreffenden Böden anbaut. Jetzt ergab sich, „daß ganz parallel mit der Stärke der im Vorjahre vorgenommenen Zuckerbehandlung Bodengesamtstickstoff, Bodensalpeterstickstoff, Erntetrockensubstanz und Erntestickstoff stiegen.“ Verf. folgert hieraus, daß der auf Kosten des Zuckers von den Bodenbakterien gebundene und in der Bakterienkörpersubstanz niedergelegte freie Stickstoff im Boden in Salpeterstickstoff übergeht und alsdann von den Pflanzen verwertet werden kann.

Vogel (Bromberg).

Kappen, Die Umwandlung des Kalkstickstoffes und seiner Zersetzungsprodukte im Boden. (Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 122.)

Die Ursachen der schädlichen Wirkung von Kalkstickstoff bei seiner Anwendung als Kopfdünger und auf saurem Boden können nach Ansicht des Verf. zweierlei Art sein. Die schon nach kurzer Zeit auftretenden Schädigungen sind auf die Bildung von Cyanamid, die in einem späteren Stadium sich einstellenden Vergiftungserscheinungen auf die Entstehung von Dicyandiamid zurückzuführen. Das Dicyandiamid scheint im Boden nicht oder nur sehr langsam gespalten zu werden, ein Umstand, der bei den bisherigen Untersuchungen über die Kalkstickstoffzersetzung noch wenig Beachtung fand. Wo also die Bildung von Dicyandiamid erfolgen kann, wird eine restlose Ueberführung von Kalkstickstoff in Ammoniak nicht zu erwarten sein.

Verf. prüfte das Verhalten von Lehm- und Sandboden zu Kalkstickstoff, Cyanamid und Dicyandiamid und stellte dabei fest, daß Kalkstickstoff und Cyanamid durch tätigen Boden leicht ammonisiert werden, während Dicyandiamid unter natürlichen Verhältnissen tatsächlich von den Bakterien des Bodens nicht oder nur äußerst langsam in Ammoniak umgewandelt wird. Nach einer 23-tägigen Versuchsdauer waren in Ammoniak übergegangen:

	Von Kalkstickstoff	Von Dicyandiamid	Von Cyanamid
Durch Lehmboden	99,84 Proz.	2,37 Proz.	89,13 Proz.
„ Sandboden	25,95 „	2,92 „	56,83 „

Müller und **Weis**, Ueber die Einwirkung des Kalkes auf Buchenrohhumus (Trockentorf). (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1907. Heft 1—5.)

Verff. verbreiten sich zunächst eingehend über die bei ihren Versuchen über Buchenrohhumus benutzten Methoden u. dgl., ohne dabei allgemeiner interessante Tatsachen beizubringen. Weiterhin wird dargestellt, wie in Anlehnung an Wagners Versuche die Wirkung von Natronsalpeter, Ammoniumsulfat wie mangelnder Stickstoffdüngung auf das Pflanzenwachstum in dem Buchenrohhumus bei Gegenwart und Abwesenheit von größeren Mengen kohlensauren Kalkes geprüft wurde, wobei sich neben vorzüglicher Wirkung des Kalkes zeigte, daß ohne Kalk allein die Natronsalpeterdüngung einiges Pflanzenwachstum hervorbringen konnte. (Ohne auf diese hier weniger in Frage kommenden Versuche näher einzugehen, sei doch bemerkt, daß Verff. bei ihrer Deutung der Ergebnisse die physiologisch basische Wirkung des Natronsalpeters völlig übersehen.)

Bevor wir uns der Besprechung der Nitrifikationsversuche der Verff. mit Buchenrohhumus zuwenden, seien noch ihre sich u. a. auch auf die Mykorrhiza-Wirkung beziehenden sonstigen Hauptergebnisse kurz erwähnt. Die Verff. sagen: Während unsere Vermutung, daß das Kalken des Buchentrockentorfes die Salpetersäurebildung in letzterem in ganz derselben Weise befördert, wie dies im Moortorfboden geschieht, und daß die dadurch gebildeten mineralischen Stickstoffverbindungen die Entwickelung unserer Kulturpflanzen in hohem Grade beeinflussen, durch die Untersuchung vollends bestätigt wurde, so hat andererseits die denselben zu Grunde liegende Vermutung über den Einfluß dieser Stickstoffquelle auf die Entwickelung von Wurzelhaaren und Mykorrhizen keine Bekräftigung erhalten. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß die Wurzelhaare ganz unabhängig von dem Gehalt oder Nichtgehalt des Bodens an Salpetersäure sich entwickeln, die Mykorrhizen dagegen, den Angaben der einschlägigen Literatur zuwider, in ihrer Entwickelung gehemmt werden, wenn die Pflanze nur in den humösen Abfällen des Waldes allein wächst, statt daß sie in dieser torfartigen Masse ein günstiges Nährmedium fände, dessen Stickstoffgehalt vermittels des Pilzmantels den Bäumen nutzbar gemacht werden könnte.

Uebrigens stehen die Verff. aber auch noch nach diesen Schlußfolgerungen auf dem Boden der Anschauung, daß die Mykorrhizen den Bäumen nützlich sind, und bringen hierfür auch verschiedenes beachtenswerte Beweismaterial.

Bei ihren Nitrifikationsversuchen mit Buchenrohhumus, unter Zusatz von steigenden Mengen von Kalk, und teilweise auch von Ammoniumsulfat, finden die Verff., daß

1) auch dort, wo der Masse kein Kalk zugesetzt war, eine unzweifelhafte, wenn gleich schwache Salpetersäurebildung vor sich ging. Sie erachten diesen Vorgang in der freien Natur jedoch als ganz minimal.

2) Bezüglich des Kalkzusatzes, der verabreicht werden muß, um eine deutliche Nitrifikation im Buchenrohhumus zu erzielen, mag als Ausschlagsgrenze die Menge anzusehen sein, welche zur Neutralisation der Humussäure erforderlich ist; erheblichere Gaben veranlassen jedenfalls starke Nitrifikation.

3) Ammoniumsulfatzusatz allein vermag im Buchenrohhumus die Nitrifikation nicht zu fördern, hemmt sie vielmehr vielleicht eher. Zuführung von Fäulnis- und Nitrifikationsbakterien vermag in diesem Falle,

wie auch bei Abwesenheit des Ammoniumsulfats, keine Salpeterbildung hervorzurufen, wohl aber zeigt sie sich deutlich vorteilhaft bei gekalktem Humus, ohne indes auch bei längerer Versuchsdauer wesentlich nützliche Wirkungen zu äußern. Es scheinen dann selbst ohne beabsichtigte Infektion entweder im Humus vorhandene Nitrifikationsbakterien sich zu kräftigen, oder andersher stammende sich einzufinden.

Es folgen dann noch allgemeine Erörterungen über die Umsetzungen der Humusstoffe, die wesentlich Neues nicht bringen. — (Verff. scheinen Winogradskys bekannte Feststellung, daß nur kohlensaures, gegebenenfalls sekundär gebildetes, Ammoniak der Nitrifikation unterliegt, bei Bearbeitung ihrer Versuche nicht gekannt zu haben, da sie diese wichtige Tatsache sonst wohl mit Vorteil hätten verwenden können.)

Ehrenberg (Breslau).

Seelhorst, C. v., Versuche über den Verbleib des Gründüngungsstickstoffs auf leichtem Sandboden. (Mitt. der deutsch. Landwirtsch.-Gesellsch. 1906. Stück 28 u. 29.)

Die oft mangelhafte Wirkung des Gründüngerstickstoffs kann auf der Bildung und Verflüchtigung von Ammoniak oder freiem Stickstoff, oder auch auf der Auswaschung der löslich gewordenen Stickstoffverbindungen beruhen. Verf. suchte diese Fragen durch exakte Lysimeterversuche, welche in einer näher beschriebenen, sinnreichen Versuchsanlage zur Durchführung kamen, zu klären. Als Gründüngungspflanze diente stets Lupinus angustifolius. Aus den in den Drainwässern und Ernten ermittelten Stickstoffwerten konnten Schlüsse auf den Verbleib des mit der Gründüngung in den Boden gebrachten Stickstoffs gezogen werden. Dabei fand der Stickstoffgehalt der Niederschläge bei den in mannigfaltigster Weise variierten, auf 14 verschiedenen Lysimeterkästen durchgeführten Versuchen entsprechende Berücksichtigung.

Die Untersuchungen erstreckten sich zunächst auf die Jahre 1904 und 1905 und ergaben mit größter Deutlichkeit, daß aus den mit Lupinengründüngungen versehenen Kästen durch die Ernten und das Drainwasser zusammen weniger Stickstoff entnommen wurde, als aus den Kästen, in welchen in beiden Jahren Getreide angebaut, bezw. Brache gehalten wurde. Die Kästen 1—12 trugen im Jahre 1904 die Lupinen, welche in verschiedener Weise untergebracht wurden, und auf welche 1905 Hack- oder Halmfrüchte (Kartoffeln, Gerste, Roggen) folgten. Kasten 13 war 1904 mit Gerste, 1905 mit Roggen bebaut und Kasten 14 blieb in beiden Jahren unbepflanzt.

Zieht man die in den Drainwässern und in den Ernten vorhandenen Stickstoffmengen von den in der Gründüngung enthaltenen ab, so erhält man folgende Zahlen (in Gramm):

1. + 2,2840	7. + 1,9017	2. + 4,7974	8. + 4,6682
3. — 4,8501	9. — 4,1061	4. — 1,2175	10. — 3,8049
5. — 5,8972	11. — 6,5901	6. — 5,2780	12. — 5,2926
14. (Brache) = — 9,6592		13. — 9,9088.	

Zum Verständnis dieser interessanten Zahlen sei die Versuchsanordnung in den beiden Berichtsjahren kurz wiedergegeben.

	Kasten:					
	1	2	3	4	5	6
	Gründüngung tief					
1904:	spät		früh			
1905:	Kart.	Gerste	Kart.	Rogg.	Kart.	Rogg.
Gründüngung:	spät		früh			

	Kasten:							
	7	8	9	10	11	12	13	14
	Gründüngung flach							
1904:	spät		früh				Gerste	Brache.
1905:	Kart.	Gerste.	Kart.	Rogg.	Kart.	Rogg.	Rogg.	Brache.
Gründüngung:	spät		früh					

Die Stickstoffabgabe der Gründüngungskästen war um so geringer, je später die Lupinen untergebracht wurden. War die 2. Lupinengründüngung erst im Frühjahr dem Boden einverleibt worden, so ergab sich sogar ein Mehr von Stickstoff. Verf. weist jedoch darauf hin, daß bei diesen Berechnungen die unzutreffende Annahme zu Grunde gelegt wurde, daß der gesamte Gründüngerstickstoff der Luft entstammte.

Der prozentische Stickstoffgehalt der Sickerwässer stand in deutlicher Abhängigkeit von dem Pflanzenbestande des Bodens, d. h. er war am größten, wenn der nitrifizierte Stickstoff auf unbebautem Lande durch die Niederschläge ausgewaschen werden konnte. Die Zeit des Anbaues und die Tiefe der Unterbringung der Gründüngungspflanzen wirkten in ausgesprochener Weise auf den Stickstoffgehalt des Drainwassers ein. Recht bedeutende Unterschiede ergaben sich im Stickstoffgehalt der aus den Getreidekästen und der aus den Kartoffelkästen abfließenden Wässer. Roggen und Gerste hatten viel weniger Stickstoff verbraucht, als die Kartoffeln. Trotzdem war das aus der mit Kartoffeln bestandenen Erde ablaufende Wasser im September und Oktober stets stickstoffreicher, als das der Roggenkästen. Verf. führt diese Erscheinung auf Denitrifikationsvorgänge zurück, die während der Zersetzung der Roggenstoppeln eintreten, durch die Trockenheit des Getreidebodens begünstigt werden und zu nennenswerten Stickstoffverlusten im Boden führen können. Der Roggenboden war während des ganzen Sommers viel trockener als der Boden der Kartoffelkästen, ein Umstand, der nach den Befunden von Warmbold begünstigend auf Eintritt und Verlauf der Salpeterzerstörung einwirkt.

Bindende Schlüsse will Verf. aus den noch weiter fortzusetzenden Versuchen nicht ziehen. Er glaubt jedoch annehmen zu dürfen, daß der größte Teil des Gründüngerstickstoffs durch die Drainwässer abgeführt wird, während ein kleinerer Teil, besonders auf durch Getreide ausgetrocknetem Land, durch Denitrifikation verloren geht. Gegen die Stickstoffverluste durch das Drainwasser schützt man sich am besten dadurch, daß man das Land möglichst unter einer Frucht hält.

Vogel (Bromberg).

Vogel, Neuere Arbeiten und Ansichten über Konservierung des Stickstoffs im Stalldünger. (Illustr. landw. Ztg. 1906. No. 96.)

Verf. schildert zunächst die bei der Verrottung und der ammoniakalischen Gärung des Stalldüngers sich abspielenden biologischen Vorgänge und unterzieht dann die verschiedenen Methoden der Düngerkonservierung einer kritischen Besprechung. Alle für diesen Zweck empfohlenen chemischen Mittel äußern eine unvollkommene, nur wenig befriedigende Wirkung. Zahlreiche Versuche haben klar erwiesen, daß alle diese Stoffe in einer praktisch möglichen Menge angewendet wirkungslos, in größeren Quantitäten dagegen viel zu teuer sind. Mehr Beachtung verdienen diejenigen zur Stickstoffkonservierung empfohlenen und häufig angewendeten Zusatzmittel, welche, wie Gips, Kainit, Superphosphat und

Superphosphatgips, gleichzeitig wertvolle Pflanzennährstoffe zuführen. Aber auch die Wirkung dieser Substanzen war bei der außerordentlich großen Anzahl der vorliegenden Versuche voll von Widersprüchen.

Wesentlich bessere Erfolge sind bei der Anwendung von Torfstreu erzielt worden, welche beispielsweise bei neueren Versuchen Immendorfs die Stickstoffverluste auf 7,3 Proz. herabgedrückt hat. Wo die Anwendung von Torfstreu untunlich erscheint, bleibt als einzige empfehlenswerte Maßnahme eine geeignete mechanische Behandlung des Düngers. Obgleich auch bei der gebräuchlichen guten Stallmistpflege (feucht und fest) größere Verluste an Stickstoff unvermeidlich sind, so bewirkt eine in dieser Richtung durchgeführte Düngerbehandlung doch auch eine bemerkenswerte Konservierung von organischer Masse, welche bei ihrer späteren völligen Zersetzung im Ackerboden eine sehr erwünschte und wertvolle Verbesserung der physikalischen und biologischen Eigenschaften des Bodens herbeiführt. Der im Tiefstall gewonnene, durch das beständige Festtreten vor zu starker Zersetzung geschützte Dünger weist daher eine ganze Reihe erheblicher Vorzüge auf, welche bei zahlreichen Versuchen auch deutlich in die Erscheinung traten.

In erfolgreichster Weise scheint sich jedoch die Erhaltung des wertvollen Stallmiststickstoffs durch die, zuerst von Soxhlet empfohlene, gesonderte Aufbewahrung der Jauche erreichen zu lassen. Versuche der neueren Zeit weisen darauf hin, daß dieses Verfahren eine vorzügliche, ja gewissermaßen die einzige wirksame Maßnahme zur Bewahrung des Düngerstickstoffs darstellt. In der getrennt von den festen Stoffen aufbewahrten Jauche ist der Stickstoff auch ohne besondere Zusatzmittel ziemlich vollständig zu erhalten. P. Wagner, Immendorf, Schneidewind, Krüger u. a. haben sich neuerdings dahin ausgesprochen, daß die Lösung des Problems der Stickstoffbewahrung im Stallmist in dem Soxhletschen Vorschlage der getrennten Ansammlung und Aufbewahrung von Harn und festen Stoffen zu suchen ist. Es liegt aber nahe, daß die Durchführung einer solchen Maßnahme in der landwirtschaftlichen Praxis auf beträchtliche Schwierigkeiten stoßen muß, da sie erhebliche Aenderungen der bestehenden Wirtschaftseinrichtungen erforderlich macht.

(Autoreferat).

Vogel, Das neue Nitragin. (Illustr. landw. Ztg. 1907. No. 2.)

Verf. schildert die Fortschritte, die besonders in der praktischen Anwendbarkeit der Reinkulturen von Knöllchenbakterien durch die neueren Arbeiten Hiltners erzielt wurden. Der zielbewußten Tätigkeit dieses Forschers ist es zu danken, daß wir z. Z. im Besitze eines Impfverfahrens und Impfmateriales sind, das in zahlreichen Fällen unter Verhältnissen, wie sie vielfach in der landwirtschaftlichen Praxis vorliegen, recht befriedigende Erfolge ergeben hat. Die Nachfrage nach Impfkulturen ist daher bereits eine recht bedeutende geworden. Im Jahre 1905 wurden von der unter Hiltners Leitung stehenden agrikulturbotanischen Anstalt in München 5220 Reinkulturen für Impfzwecke abgegeben. Von diesen wurden 1812 für Impfversuche mit Seradella verwendet. Im allgemeinen hat sich gerade diese für viele Wirtschaften Nord- und Mitteldeutschlands so wichtige Gründüngungspflanze für eine Impfung besonders dankbar erwiesen. Von insgesamt 62 Berichten, die über Seradellaversuche bei Hiltner einliefen, lauteten 85 Proz. günstig.

685 Nitraginkulturen sind im Jahre 1905 für gelbe und blaue Lupinen zum Versand gebracht worden, während zur Impfung von Erbsen, Wicken, Pferdebohnen und Gartenbohnen 1354 Kulturen Verwendung fanden. (Autoreferat.)

Passerini, N., Sopra la quantità di rame che si trova nell'olio ottenuto da olivi irrorati con poltiglia cupro-calcia. (Stazioni sperimentali agrarie. Vol. XXXVIII. p. 1033—1038.)

Angesichts der nunmehr allgemein angewandten Bespritzung der Oelbäume mit Kupferkalkbrühen stellte Verf. fest, daß durch solche Behandlungen das Oel keineswegs mit Kupfer bereichert wird. Olivenöl enthält überhaupt eine äußerst geringe Menge Kupfer, und zwar weniger als 1 mg pro Kilo. Pantanelli (Rom).

Bernard, Ch., Notes de pathologie végétale. I. Sur quelques maladies de Thea assamica, de Kickxia elastica et de Hevea brasiliensis. (Bulletin du Département de l'Agriculture aux Indes Néerlandaises. No. VI. 1907. 55 p. 4 Tab.)

Auf Thea assamica wurden Pestalozzia Palmarum und Hypochnus Theae nov. spec. angetroffen. Erstere Art verursacht ziemlich bedeutenden Schaden, letztere ist weniger gefährlich. Ferner wurden die Teepflanzen stark von Laestadia Theae Racib. befallen. Dieser Pilz tritt nicht nur, wie Raciborski meint, an alten, nicht mehr pflückbaren Blättern auf, sondern auch an völlig gesunden und bewirkt bei massenhaftem Vorkommen eine offenkundige Schwächung der Nährpflanze.

Auf Kickxia elastica trat ein neues Capnodium (C. indicum) schädigend auf, desgleichen eine Coccidee der Gattung Lecanium.

Stämme von Hevea brasiliensis wurden durch eine Bohrlarve beschädigt; auf jungen Exemplaren derselben Pflanze trat ferner ein winziges, unbestimmbar gebliebenes Insekt auf.

H. Sydow (Schöneberg).

Naumann, Arno, Die Pilzkrankheiten gärtnerischer Kulturgewächse und ihre Bekämpfung. Teil I. 156 p. Dresden (C. Heinrich) 1907.

Das vorliegende Buch ist für die Hand des Gärtners und Gartenliebhabers bestimmt und wird daher in erster Linie praktischen Forderungen gerecht. Die Darstellung ist anziehend und allgemeinverständlich, die Behandlung des Stoffes dabei doch wissenschaftlich und korrekt.

Zur Einführung für den Praktiker und um diesem die zum Verständnis notwendigen Vorkenntnisse zu vermitteln, gibt Verf. zunächst eine allgemeine Darstellung des mikroskopischen Baues und des Lebens der Pilze, der Art der durch sie an gärtnerischen Kulturpflanzen hervorgerufenen Krankheiten und der äußeren Kennzeichen derselben. Die wichtigsten der in Betracht kommenden Schädlingspilze werden in systematischer Anordnung kurz besprochen.

In der Anlage des speziellen Teiles, in dem die Krankheiten der Gemüse, Stauden und Annuellen sowie der Kalt- und Warmhauspflanzen, so vollständig wie dies bei unserer leider noch recht lückenhaften Kenntnis derselben möglich, behandelt werden, bedient sich Naumann der gerade für die praktischen Zwecke des Buches sehr geeigneten analytischen Methode, dabei den Hauptwert auf den äußeren Krankheitsbefund legend; doch finden auch die mikroskopischen Erkennungsmerkmale in ausreichender Weise Berücksichtigung. Die allgemeiner verbreiteten Krankheiten sind unter der Bezeichnung „Familienkrankheiten“ jeweils zusammengefaßt und jeder neuen Pflanzen-

gruppe vorausgestellt, eine wertvolle Neuerung, die in besonderem Maße geeignet ist, auch den nicht pathologisch geschulten Praktiker zu eigenen Beobachtungen und zu verständnisvoller Betrachtung und Behandlung seiner Pfleglinge anzuleiten. Nur in einer Richtung würde ich eine Vervollkommnung des Buches darin erblicken, wenn Verf. an den Stellen, wo ähnliche Krankheitsbilder durch tierische Feinde (z. B. die durch Nematoden verursachten Blattflecken bei Phlox, Chrysanthemen u. a., die Blattverkrüppelungen bei Begonien und Gloxinien u. s. w.) oder atmosphärische und andere Einflüsse hervorgerufen werden, diesbezügliche Hinweise einschalten würde, um eventuelle Mißdeutungen und aus diesen resultierende unzweckmäßige Maßnahmen zu verhüten.

Der Bekämpfung der Pilzkrankheiten ist ein besonderer Abschnitt gewidmet; es werden die direkten und indirekten Kampfmittel zunächst im Zusammenhang besprochen und dann in einer dem Buche angefügten Tabelle, auf die sich die im speziellen Teil bei jeder einzelnen Krankheit verzeichneten Hinweise beziehen, kurz zusammengefaßt, eine Einrichtung, welche geeignet ist, die Handhabung und Verwendung des Buches in der Praxis wesentlich zu erleichtern. Sehr zu begrüßen sind die Ausführungen des Verf. über Disposition und Pflanzenhygiene. Diese Darlegungen sind in ihrer verständlichen und einleuchtenden Klarheit geeignet, und werden hoffentlich auch dazu beitragen, daß die Gärtner anstatt ihre ganze nur allzu oft trügerische Hoffnung auf direkte Bekämpfungsmittel, nicht selten auch auf Geheimmittel meist recht zweifelhaften Wertes, zu setzen, von der Erkenntnis durchdrungen werden, daß eine individuellere Behandlung und Beobachtung ihrer Gewächse not tut, daß aber das beste Mittel, Krankheiten zu vermeiden, eine sorgfältige Pflege und richtige Ernährung der Kulturpflanzen ist.

Eine große Anzahl zum Teil vortrefflicher Abbildungen sind an den einschlägigen Stellen im Text eingefügt, andere befinden sich auf mehreren dem Buche angehängten Tafeln zusammengestellt. Ueberhaupt ist die ganze Ausstattung des Werkchens eine gute, und erscheint dasselbe geeignet, einem tatsächlich vorhandenen Bedürfnis abzuhelfen, da es durch seine übersichtliche und das Unwesentliche vermeidende Anordnung den Praktiker in die Lage versetzt, sich in kurzer Frist über eine auftretende Krankheit zu orientieren und die zu ergreifenden Bekämpfungsmaßregeln kennen zu lernen; ihm sei das Naumannsche Buch daher besonders warm empfohlen. Simon (Dresden A.).

Hiltner, Stimmen aus der Praxis über die diesjährigen Auswinterungsschäden und deren Ursachen. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 5.)

Aus den Berichten über das Auswintern des Roggens geht ganz besonders die Tatsache hervor, daß, abgesehen von einzelnen Fällen, fast ausschließlich der als Schneeschimmel, Fusarium nivale, bekannte Pilz die Auswinterung verursacht hat. Für seine Ausbreitung auf der Oberfläche des Bodens ist, wie dies denn auch in den Berichten deutlich zum Ausdruck kommt, tatsächlich Vorbedingung, daß der Boden nicht gefroren ist, und daß eine Schneedecke den gegen Wind und Besonnung außerordentlich empfindlichen Pilz schützt. Der Pilz ist also Ursache, und nicht Folge des Eingehens oder Erkrankens der Pflanzen. Daß diese Ansicht auch vielfach von den Landwirten geteilt wird, geht aus ihrem, erfolglosen, Bestreben hervor, die Schimmelhäute mit Heurechen oder Birkenbesen zu entfernen.

Weiter wird ein Versuch mitgeteilt, bei welchem vergleichend angebaute Roggensorten, nämlich Petkuser, Alt-Paleschkener und Zeeländer, sehr verschieden unter Schneeschimmel litten. Während die beiden ersten kaum geschädigt wurden, erwiesen sich alle mit Zeeländer bestellten Parzellen beim Weggange des Schnees stark von Schneeschimmel befallen. Das nämliche Ergebnis brachte auch ein anderen Orts angestellter Versuch.

Endlich scheint nach den Mitteilungen der Praxis, wie gleichgerichteten Untersuchungen des Verf. die Möglichkeit vorzuliegen, daß das heftige Auftreten des Schneeschimmels, das sehr oft lediglich auf eingeführte, fremde Sorten beschränkt blieb, und die altgewohnten landesüblichen Sorten verschonte, durch Verwendung mit Schneeschimmel infizierten Saatgutes auswärtiger Herkunft bedingt wurde. Weitere Prüfung dieser Frage ist beabsichtigt, und scheinbar die Hoffnung vorhanden, daß durch Abtöten der auf der Roggensaat vorhandenen Fusarium-Keime (z. B. bei Verwendung überjährigen Kornes), die Schädigungen durch den Schneeschimmel wesentlich zu vermindern sind. Ehrenberg (Breslau).

v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie. [II. Mitteilung.] (Sitzungsber. der kaiserl. Akademie der Wissensch. Wien. II. Klasse. Bd. CXV. Abt. I. 1906. p. 649—695. Mit 2 Figuren.)

Uns interessieren aus der großen Fülle von kritischen Erläuterungen hier insbesondere folgende: Fusidium leptospermum Pass. ist das Konidienstadium von Entyloma Ranunculi Bon. — Von den bisher auf Phragmites beschriebenen 9 Stagonospora-Arten sind zweifelsohne einige miteinander identisch. — Das Genus Hainesia gehört nach Verf. nicht zu den Melanconieen, sondern zur Untergattung Selenospora des Fusarium; Dacryomyces Lythri Desm. gehört zu Hainesia; Hainesia taphrinoides D. Sacc. et Cav. ist kein Pilz, sondern eine gallenartige verschimmelte Bildung. — Die 3 von Preuss auf Pinus-Nadeln beschriebenen Penicillium-Arten (P. fuscipes, finitimum, flexuosum) sind nach Verf. identisch mit Haplographium penicillioides Fautr.; dieser Pilz muß den Namen Hapl. finitimum (Preuss) Sacc. führen; Sclerotium glauco-albidum Desm. gehört in dem Entwickelungskreis desselben.

Coryneum macrospermum B. et Br. ist eine Stilbospora.

Didymosporium macrospermum Corda ist wegen der 4-zelligen Sporen eine Stilbospora und wird St. Cordaeana Höhn. genannt.

Stilbospora macrosperma Pers. in den Exsiccaten ist teils St. angustata, teils Steganosporium piriforme.

Stilospora macrosperma B. et Br. und Dothiorella convergens n. sp. werden als Nebenfruchtformen der Pseudovalsa convergens Tode (Sacc.) angesehen.

Zur Gattung Phomopsis Sacc. (eine Nebenfruchtform von Diaporthe darstellend) gehören Septomyxa Tulasnei (Sacc. sub Myxosporium), ferner einige Phoma- und Fusicolum-Species.

Sphaeropsis scutellata Otth. wird zu Myxosporium gestellt als Myx. scutellatum (Otth.) Höhn. und ist eine Nebenfruchtform von Ocellaria aurea.

Agyriellopsis difformis n. sp. wurde auf trockenem Lindenholze beobachtet.

Septoria Heraclei Desm., S. Heraclei Lib., Cylindrosporium Heraclei Ell. et Ev. und Cyl. hamatum Bres. sind identisch; der Pilz muß Cylindr. Heraclei (Lib.) Höhn. heißen.

Sphaeria inversa Fr. muß Dothiorella inversa (Fr.) Höhn. heißen.

Dothiorella stromatica (Preuss) [auf Prunus Cerasus] und ferner die auf Sorbus lebenden D. sorbina Karst., D. multiplex (Preuss) und D. caespitosa (Preuss) sind identisch und stellen den Konidienzustand von Tympanis conspersa vor.

Pleonectria lichenicola (Cronan) Sacc. ist identisch mit Ciliomyces (n. genus) oropensis (Ces) Höhn. (= Nectria oropensis Ces.).
Xyloma confluens Schw., Rhytisma confluens Fr., Leptostroma Eupatorii, All. und Dothichiza Eupatorii C. Mass. stellen denselben Pilz vor; er ist ein Ascomycet mit rasch zerfließenden Schläuchen, und Verf. gründet auf ihn die neue Gattung Myxodiscus, die er einstweilen zu den Dothideaceen stellt.
Botryosphaeria Mollugunis n. sp. lebt auf Gallium Mollugo.
Die Gattung Dothiora gehört zu den Dothideaceen (und nicht zu den Pseudophacidieen).
Coronophora annexa Nke. wird Cryptosphaerella annexa (Nke.) Höhn. genannt und ist mit Crypt. Nitschkei (Auersw.) Sacc. identisch.
Coronophora thelocarpoidea n. sp. wurde auf Fagus-Arten gefunden.
Valsa subcongrua Rehm ist mit Calosphaeria parasitica Fuck. identisch.
Sphaerella Leersii Pass. und die auf Rhamus vorkommenden Diaporthe-Arten (D. syngenesia [Fr.], D. Berlesiana Sacc. et Roum., D. nigricolor Nke.) sind identisch mit Leptosphaeria culmicola (Fr.).
Unguicularia falcipila n. sp. auf Urtica dioica gefunden.
Euchnoa alnicola n. sp. auf Alnus glutinosa-Zweigen gefunden.
Zythia Rhinanthi (Sommerf.) Fr. = Sphaeronaema Rhinanti Lib. = Phoma deustum Fuck. = Doassansia Rhinanthi Lagh. stellen den unreifen Zustand von Pyrenopeziza Rhinanthi (Sommerf.) Sacc. (= Mollisia Rhinanthi Karst.) vor.
Sphaeria Cicutae Lasch. ist Placophaeria Cicutae (Lasch) Höhn.; der zugehörige Ascuspilz dürfte eine Pyrenopeziza sein.
Cenangium rosulatum n. sp. auf Salix purpurea-Aesten gefunden.
Naemacyclus caulium n. sp. auf Stengeln von Urtica dioica gefunden.
Gymnosporangium Oxycedri Bres. identisch mit G. gracile Pat.
Ulocolla badio-umbrina Bres. identisch mit Exidia neglecta Schröt.
Merulius giganteus Sauter identisch mit Polyporus Schweinitzii Fr.
Ganoderma Pfeifferi Bres. identisch mit Polyporus laccatus Kalchbr.
Lenzites faventina Cald. identisch mit L. Reichhardtii Schultz.
Inocybe fulvella Bres. identisch mit I. rufo-alba Pat. et Doass.
Lycoperdon annularius Beck und Lyc. Ratthayanum Wettst. identisch mit L. hiemale Bull.
Bovista ochracea Wettst. identisch mit Lycoperdon pusillum Batsch.
Pyrenopeziza lugubris (De Not.) Sacc. identisch mit Scleroderris aggregata (Lasch).
Helotium glabrescens Boud. identisch mit Coryne prasinula Karst.
Sphaeronaemella Helvellae Karst. identisch mit Melanospora vitrea Sacc.
Oedemium Thalictri Jaap identisch mit Haplobasidium Thalictri Erikss.
Nematogonium album Bainier identisch mit Phycospora albida Höhn.

Matouschek (Reichenberg).

Bubák, Franz, Houby české. Díl I. Rezy (Uredinales). [= Die Pilze Böhmens. I. Teil. Die Rostpilze.] (Archiv für die naturwissenschaftliche Durchforschung Böhmens. Bd. XIII. No. 5.) 226 p. Mit sehr vielen Abbildungen im Texte. Prag 1906. Preis ungeb. 14 Kronen. [Tschechisch.]

Es ist erfreulich, daß endlich eine kritische Bearbeitung der Pilze Böhmens erfolgt. Verf. ist auch hierzu der richtige Mann, da er nicht nur ein anerkannter Fachmann ist, sondern auch deshalb, weil er als Professor der landwirtschaftlichen Akademie in Tábor mit allen Floristen des Landes in Verbindung steht und ihm all die vergrabenen Herbarschätze zur Verfügung stehen konnten. Und bei der Bearbeitung einer Landflora ist nichts interessanter und dankbarer, als das Studium der Herbarien aller auf dem betreffenden Gebiete im Lande tätig gewesenen Männer. Und solche gab es eine größere Anzahl, vor allem Ph. Max. Opiz, den Vater der kryptogamistischen Erforschung Böhmens, Corda, Krombholz und Peyl. Die Verdienste dieser Männer werden kritisch beleuchtet. Die Durchsicht der Literatur und insbesondere der Aufsammlungen zeigte aber anderseits, daß viele Originale nicht auffindbar

oder von Insektenfraß sehr stark beschädigt sind und daß bei den Funden keine genauen Fundorte (dies gilt leider insbesondere von Corda) verzeichnet sind. Auf die seit 1815 etwa währende Blütezeit der mykologischen Durchforschung des Landes folgte eine Zeit des Stillstandes, bis 1875 Thümen auftrat, dessen Hauptherbar allerdings in Bukarest in Flammen aufging. Doch sind die meisten Originale in den von ihm herausgegebenen Exsiccatenwerken noch erhalten. Später sind zu nennen Paul Hora, I. Schroeter und Lehmann. Seit 1890 arbeitet Verf. im Lande fruchtbringend, in letzter Zeit hilft J. E. Kabát, Direktor der Zuckerfabrik in Welwarn, mit. — Die genauere Durchsicht des I. Teiles zeigt sofort, daß man es mit einer gründlichen, kritischen Arbeit zu tun hat, in der alles mit sorgfältiger Revidierung aufgenommen wurde. Nach einer Charakteristik der Pilzgruppe wird zuerst die Ordnung der Pucciniaceae mit der ersten Familie (Puccinieae) und dem Gattungsschlüssel erläutert. Bestimmungstabellen der Arten sind nicht vorhanden, doch ist die Uebersicht dessenungeachtet eine sehr klare. Die Diagnosen sind ist sehr genau und zeitgemäß verfaßt; die Synonymik ist namentlich in Bezug auf die seltene zerstreute Literatur in dankenswerter Weise durchgearbeitet und bringt oft Neues. Zahllos sind die kritischen Bemerkungen und die Darlegungen der Impfversuche. Die Standorte ordnete Verf. nach den Wirtspflanzen. Die Abbildungen sind teils Originale, teils Kopien. Mit den nur als Aecidium oder nur als Uredo bisher bekannt gewordenen Arten beläuft sich die Zahl der bisher in Böhmen gefundenen Species auf 308.

Neu beschrieben oder neu benannt sind folgende: Uromyces lupincolus Bub. (= Dicaeoma Lupini Hoffm. in schedis) auf Lupinus sp., von Urom. Anthyllidis sehr verschieden; Puccinia praecox Bub. (= Aecidium praecox Bub.) auf Crepis biennis; Pucc. dactylidina Bub. (auf Dactylis glomerata); Pucc. Poae trivialis Bub. (auf Poa trivialis); Puccinia Avenae pubescentis Bub. (auf Avena pubescens); Pucc. Opizii Bub. (= Aecidium lactucinum Lagerh. et Lindr.); Pucc. Čelakovskyana Bub. (auf Galium cruciatum, früher mit Pucc. punctata zusammengeworfen); Pucc. montivaga Bub. (auf Hypochoeris uniflora im höheren Mittelgebirge, früher mit Pucc. Hypochoeridis Oudem. zusammengeworfen); Melampsora minutissima (Opiz) Bubák (= Mel. Larici-pentandrae Kleb. = Uredo minutissima Opiz 1852); Mel. Ribesii-Salicum Bub. nov. nomen (= Mel. Ribesii-tremulae Kleb. et M. Ribesii-auritae Kleb.); Mel. Symphyti (DC.) Bub. (= Uredo Symphyti DC.); Aecidium Stellariae Kirchner 1856 gehört zu Melampsora Caryophyllacearum (DC.) Schroet. auf Stellaria graminea; Aecidium Kabatianum Bub. (auf Myosotis stricta); Uredo anthoxanthina Bub. (auf Anthoxanthum odoratum im Riesengeb.), Uromyces Kabatianus Bub. (= Uromyces Geranii Winter pro p.) auf Geranium pyrenaicum; Uromyces Jordianus Bub. nov. nomen (= Uredo Astralagi Jordi nec Opiz) auf Astragalus exscapus; Urom. Thapsi (Opiz) Bub. (= Uromyces Verbasci Niessl).

Bei Arten, welche Kulturpflanzen schädigen, wird das Auftreten und die Verbreitung genau angeführt.

Nicht unerwähnt mag bleiben, daß die anderen Teile der „Pilze Böhmens" bald nachfolgen werden. Der 2. Teil wird die Phycomycetes,

Ustilagineae und Tilletineae, der 3. die Basidiomyceten, der 4. die Ascomyceten und der letzte die Fungi imperfecti enthalten. Die Myxomyceten Böhmens hat in dem oben genannten Archive früher bereits Lad. Čelakovský fil. herausgegeben. Ueber die anderen Teile werde ich seinerzeit hier auch referieren. Auch wird jeder Teil des großangelegten Werkes in deutscher Sprache seinerzeit erscheinen. Nur das Land Tirol (mit Vorarlberg und Liechtenstein) kann sich einer gleichen kritisch bearbeiteten Pilzflora in der österreichisch-ungarischen Monarchie rühmen.

Matouschek (Wien).

Bubák, Fr. und **Kabát, J. E.,** Fünfter Beitrag zur Pilzflora in Tirol. (Berichte des naturwissensch.-medizinischen Vereins in Innsbruck. Jahrg. XXX. 1905/06. 20 p. des Separatums; mit 1 Textbilde.)

Bearbeitung von in Südtirol gesammeltem Material. Neu werden beschrieben: Schizothyrium acuum Bub. (auf trockenen Nadeln von Pinus sp. in Meran); Phyllosticta Bresadoleana Bub. et Kab. (auf lebenden Blättern von Quercus pubescens bei Trient); Ascochyta Adenostylis Kab. et Bub. (auf lebenden Blättern von Adenostyles albifrons im Zillertale = Phyllosticta Adenostylis Allesch., die auch zweizellige Sporen hat); Septoria marmorata Kab. et Bub. (auf lebenden Blättern von Populus tremula in Val di Genova; bildet marmorierte Flecken und ist durch diese von allen anderen auf Populus-Blättern vorkommenden Species leicht zu unterscheiden); Sept. Podagrariae Lasch. nov. var. Pimpinellae magnae Kab. et Bub. (auf lebenden Blättern von Pimpinella magna im Vilnößtale); Sept. pteridicola Kab. et Bub. (auf lebenden und absterbenden Wedeln von Pteris aquilina im Val di Genova; die Art hat mit Ascochyta Pteridis Bres. nichts gemein); Gloeosporium Pteridis (Kalchbr.) Bub. et Kab. (früher als Fusidium Pteridis Kalchbr. bezeichnet; Gl. Pteridis Harkn. ist viel jünger (1884) und muß Gl. obtegens Sydow heißen, mit welchem es auch identisch ist); Gl. leptostromoides Bub. (auf Stengeln von Abutilon sp. cult. in Meran); Ovularia conspicua Fautr. et Lamb. var. nov. Cardui Kab. et Bub. (auf Blättern von Carduus personata im Zemmgrunde); Sirodesmium Rosae Bub. (in leeren Pykniden von Phoma pusilla Sacc. et Schulzer eingesenkt auf toten Aesten von Rosa sp. cult. in Meran; dazu das Bild). — Puccinia uralensis Tranzschel ist gewiß auf Senecio nemorensis in den Alpenländern verbreitet. — Genauere Diagnosen werden gegeben von den Pflanzenschädigern: Pleosporia orbicularis Auersw., Phomopsis cinerascens (Sacc.) Bub., Septoria Artemisiae Pass., Sept. betulina Pass., Gloesporium alneum West., Ramularia anserina All. — Camarosporium oreades (Dur. et Mont.) Sacc. (auf lebenden Blättern von Quercus pubescens) ist die blattbewohnende Form von Dichomera Saubinetii (Mont.) Cooke und es sind wohl beide genannten Gattungen identisch. — Außer den als neu beschriebenen Arten sind noch 23 Arten für das Kronland als neu nachgewiesen worden.

Matouschek (Wien).

Bubák, Fr. und **Kabát J. E.,** Sechster Beitrag zur Pilzflora von Tirol. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. No. 1. p. 40—45.)

Neu sind: Puccinia Heimerliana Bub. (Vilnöss in Südtirol

auf nackten Halmen von Melica ciliata, dem Typus der Puccinia graminis angehörig, doch die Uredosporen sind ganz verschieden und einzellige Teleutosporen sind vorhanden); Phyllosticta celtidicola Bub. et Kab. (auf lebenden Blättern von Celtis australis bei Trient); Septoria associata Bub. et Kab. (auf der Oberseite der Flecken, die von Fusicladium Schnablianum Magn. gebildet werden; auf lebenden Blättern von Carduus defloratus in Südtirol); Septoria heracleicola Kab. et Bub. (auf lebenden Blättern von Heracleum sibiricum, Südtirol); Septoria phlyctaeniformis Bub. et Kab. (auf lebenden Blättern von Laserpitium Gaudini in Südtirol); Cylindrosporium Lathyri Bub. et Kab. (auf lebenden Blättern von Lathyrus vernus in Südtirol).

Matouschek (Wien).

Voglino, P., I funghi più dannosi osservati nella provincia di Torino nel 1905. (Sep. aus Annali d. R. Accademia di Agricultura di Torino. Vol. XLIII. 42 p. Mit Textfigg.)

Am häufigsten traten auf: Kohlhernie und Rübenkropf, zusammen mit Heterodera radicicola, diese auch auf Mohrrüben und Radieschen, mit Kreolin oder Phenxoleum erfolgreich bekämpft;

Cystopus auf Blumenkohl, Tragopogon und Schwarzwurz;

Falscher Meltau auf Kohl, Klee, Wicke, Tomaten, Kartoffeln, Weinstock u. s. w.;

Sclerotinia auf Klee;

Meltau auf Kürbisfrüchtlern und anderen Gemüsen;

Uromyces und verschiedene Rostpilze auf Cicer, Zuckerrübe, Esparsette;

Schwarzbrenner (Ascochyta) auf Bohnenblättern;

Septoria Cucurbitacearum, piricola, Puccinia cerasi auf Kirschen und Zwetschen, Puccinia Prunis pinosae auf Aprikosen, P. prunicola auf Zwetschen mit der stromatischen Form auf den Aesten; Clasterosporium und Fusicladium, auf Blättern und Früchten, mit Wintermycelien auf Zweigen, wurden durch Bepinselung mit 10 Proz. Eisensulfat + 5 Proz. Kalk bekämpft;

Coniothyrium Diplodiella auf Beeren und Reben des Weinstockes.

Außerdem wurde beobachtet: Uebergang des Phytophthora-Mycels vom Kartoffelstengel zu den Knollen und umgekehrt und Bildung von Konidien oder Zoosporangien auf jungen Stengeln; Infektion von Weinbeeren durch Plasmopara-Konidien, die sich in der Beerenansatzfurche einnisten; Erkrankung der Kardenblätter durch Bremia Lactucae, welche auf Salatblättern Konidien bei einem Maximum von 5,5° C. und einem Minimum von — 3,7° C ausbildete; Variationen der Sporengröße bei Erysipheen; Unterschiede zwischen Sphaerella Piri und S. sentina; Entwickelung und Fruchtbildung von Coniothyrium Diplodiella auf Weinreben; ungeheure Verbreitung der Puccinia Cerasi mit Optimum bei 14,8° und 12,1° C und Sporenbildung zwischen 12,5° und 2,2° C.; Unabhängigkeit von Stereum fistulosum und Daedalea quercina auf Eichen; Ueberwinterung in Zwetschenzweigen des Mycels von Phyllosticta prunicola; Variabilität in der Saumfarbe verschiedener Pilzflecken auf Pflanzenteilen; große Verbreitung von Gloeosporium Platani; Identität von Septoria polygonicola mit S. polygonina, von Pyricularia Oryzae, parasitans,

Dactylaria parasitans mit Piricularia grisea, von Cercospora hypophylla mit Rosae alpinae; 4 neue Arten: Cicinnobolus Artemisiae, Sphaerella Cydoniae, Phyllosticta Pruni domesticae, Ramularia Paeoniae; eine neue Form: Phragmidium Rubi forma Fragariae. E. Pantanelli (Rom).

Neger, F. W., Ein Beitrag zur Pilzflora der Insel Bornholm. (Botanisk Tidskrift. Bd. XXVII. p. 361—370.)

Aufgezählt werden die vom Verf. im Sommer 1906 auf der Insel Bornholm gefundenen Pilze, wobei meistens die parasitischen berücksichtigt werden. Uns interessiert hier nur folgendes:

1) Taphrina Carpini erzeugt massenhaft Hexenbesen auf Carpinus Betulus; dieser Baum wird sehr oft von Irpex obliquus befallen (Weißfäule).

2) Auf Schwarzpappeln entwickelt sich kolossal Taphrina aurea.

3) Auf den Tannen wurden die meisten wichtigen Parasiten recht zahlreich gefunden.

4) Peridermium conorum Thümen tritt auf Fichtenzapfen sehr häufig auf. Matouschek (Wien).

Sydow, H. et **P.** et **Butler, E. J.**, Fungi Indiae orientalis. Pars I. (Annales mycologici. Vol. IV. No. 5. p. 424—445.)

In diesem ersten Teile werden die Ustilagineen und Uredineen veröffentlicht, die Butler durch mehrere Jahre in den verschiedensten Teilen Ostindiens gesammelt hatte. Aus der erstgenannten Familie werden 11 neue Arten und eine neue Form beschrieben, aus der zweiten Familie 30 neue Arten. Die Diagnosen sind lateinisch verfaßt. Die Literatur und Synonymik wird genau erläutert, desgleichen die Art und Weise, wie der Pilz als Schädiger der Wirtpflanze auftritt. Ustilago Sacchari Rabh. befällt recht häufig mehrere Varietäten des Saccharum officinarum var. Khasi, wobei er besonders die dünnhalmigen Sorten bevorzugt; Ustilago Cynodontis P. H. ist der häufigste Brandpilz Indiens; Cintractia Sorghi-vulgaris (Tul.) Clint. tritt auf Sorghum vulgare außerordentlich schädigend auf; Uromyces Hobsoni Vize perenniert in der Nährpflanze, das ausdauernde Mycel lebt in der Rinde der jüngeren Zweige von Jasminum grandiflorum; Puccinia princeps Syd. n. sp. bildet an Holzkröpfe erinnernde große Auswüchse an den Stengeln der Nährpflanze, Pogostemum sp., und steht in dieser Beziehung bisher einzig da; Melampsora Lini (DC.) Pers. befällt sämtliche einheimische Varietäten des gemeinen Flachses sehr stark, während unmittelbar daneben kultivierte, aus Europa eingeführte Varietäten gänzlich pilzfrei bleiben; Aecidium nobile Syd. n. sp. tritt mit Hemilea vastatrix auf Coffea arabica auf, doch scheint keine Zusammengehörigkeit zwischen beiden zu existieren. Matouschek (Wien).

Turconi, M., Nuovi micromiceti parassiti. (Atti R. Ist. Bot. dell' Univers. di Pavia. 2. ser. Vol. XI. Tab. 21—22.)

Beschrieben werden aus den Gewächshäusern des Turiner botanischen Gartens: Phyllosticta Phyllodendri auf Phyllodendron bipinnatifidum, Cytosporella Cinnamomi auf Cinnamomum Burmanni, Ascochyta Camphorae auf Camphora

glandulifera und Colletotrichum Briosii auf Cinnamomum Burmanni. Matouschek (Wien).

Petersen, H. E., Contributions à la connaissance de Phycomycètes marines. (Chytridinae Fischer). (Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Forhandlingar. 1905. No. 5. p. 439—488. Mit vielen Textabbildungen.)

Behandelt die Erforschung der an den Küsten von Dänemark, Grönland, Norwegen und den Far-Öer-Inseln vorkommenden Arten, die teils an frischem, teils an präpariertem Materiale aus dem Kopenhagener botanischen Museum vorgenommen wurden. Auch Kolderup und Rosenvinge lieferten Beiträge. Die diesen Chytridiaceen zugehörigen Nährpflanzen wurden von E. Børgesen und H. Jønsson revidiert.

Allgemeine Resultate: Genus Chytridium ist unter den marinen Arten zu streichen, da Ch. Polysiphoniae Cohn der Gattung Rhizophidium (Schenk) Fischer angehört. Zwei neue Gattungen, Sirolpidium und Pontisma, sind je durch eine Art repräsentiert; erstere gehört zu den Holochytriaceen, letztere ist mit Lagenidium verwandt. Von Ectrogella Zopf wird eine neue Art beschrieben; zu Eurychasma P. Magn. stellt Verf. die neue Art Eur. sacculus und das Olpidium Lauderiae Gran (letztere mit einigem Zweifel). Auf Eurychasma gründet Verf. eine neue Familie: Eurychasmaceae, die er den Monolpidiaceen und den Merolpidiaceen in der Gruppe der Myxochytridineen an die Seite stellt. — Einige neue Arten (13) und nomenklatorische Notizen interessieren uns auch. Die Zahl der durch vorliegende Arbeit bekannt gewordenen marinen Chytridiaceen steigt auf 25 Arten. Alle neuen und auch schon bekannte Arten werden abgebildet.

Matouschek (Wien).

Vuillemin, P., Un nouveau genre de Mucédinées: Hemispora stellata. (Bulletin de la Société Mycologique de la France. T. XXII. p. 125—129; mit 1 Tafel.)

Auf der Unterseite einer Kruste von Aspergillus repens fand Verf. einen zu den Mucedineen gehörigen Pilz, der weißlich, diskusförmige, sitzende, etwa 2—2½ mm lange Körper bildet, deren Oberfläche Konidienträger hat. An der Spitze der sporentragenden Aeste entstehen „Protokonidien“, die sich in eine Reihe leicht voneinander abhebender Sporensegmente verwandeln. Verf. benennt letztere „Deuterokonidien“. Matouschek (Wien).

Guillon, J.-M., Recherches sur le développement du Botrytis cinerea, cause de la pourriture grise des raisins. (Comptes Rendus de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXLII. p. 1346—1349.)

Die graue Fäulnis der Trauben, verursacht durch Botrytis cinerea, führt jedes Jahr zu großen Verwüstungen. Verf. konnte durch einige Laboratoriumsversuche die Entwickelung des Pilzes verfolgen. Jede irgendwie verletzte Beere, auf die zufällig einige lebende Sporen von Botrytis fallen, verfault unfehlbar, und zwar binnen einer sehr kurzen Zeit, zwischen 36 Stunden und 3 Tagen nach erfolgter Infektion, wenn die Feuchtigkeit der Luft genügend groß ist.

Wenn sich Botrytis in Berührung mit einer gesunden Beere normal entwickelt, kommt sie regelmäßig dazu, die Schale der Beere zu durchwuchern und sie zu zerstören. Die Infektion schreitet dann von einer

Beere auf die nächste fort, ohne jedoch solche, die in einer gewissen Entfernung sind, erreichen zu können. Deshalb breitet sich die Infektion nur schwer auf Trauben mit weitstehenden Beeren aus, und wenn sie solche trifft, so ist oft nur eine einzige Beere befallen.

Houard (Paris).

Massee, G., Revision of the genus Hemileia Berk. (Bull. of Miscellan. Informat. Kew. 1906. p. 35—42, with 1 plate).

Verf. unterscheidet vier Arten der Gattung, deren häufigste bekanntlich in Kaffeeplantagen unberechenbaren Schaden anrichten kann, nämlich:

H. vastatrix Berk. et Broome (syn. H. Canthii Berk. et Broome) auf Coffea-Arten von Afrika über Asien bis nach Samoa weit verbreitet; ferner auf Plectonia (Canthium) campanulatum in Indien, Gardenia jasminoides in China, Craterispermum laurinum in Zentral-Afrika,

H. Woodii Kalchbr. et Cooke auf Vangueria-Arten und Coffea Ibo in Afrika, auf Gardenia-Arten in Java und Queensland,

H. americana Massee auf Cattleya Dowiana in Costa Rica,

H. indica n. sp. auf Macropanax in Indien.

H. Sydow (Schöneberg).

Salomon, E. S., On Oidiopsis taurica (Lév.), an endophytic member of the Erysiphaceae. (Annals of Botany. Vol. XX. p. 187—199. Mit 2 Tafeln.)

Erysiphe taurica Lév. wird als Typus einer neuen Gattung, die Oidiopsis genannt wird, hingestellt, da das Mycel endophytisch leben kann, indem die aus Ascosporen (oder Konidien) entstehenden Keimschläuche durch die Spaltöffnungen in das Blattinnere eindringen und hier zu einem vegetativen Mycel sich entwickeln können. Nur wenn Konidien und Perithecien sich bilden sollen, verläßt das Mycel das Blattinnere wieder durch Spaltöffnungen. Auch bei Phyllactinia hat Palla ähnliches nachgewiesen. Außerdem herrscht noch in folgenden zwei Punkten Uebereinstimmung zwischen diesen beiden Gattungen: Aehnliche Verbreitung auf vielen Wirtpflanzen und in verschiedenen Weltteilen. Doch ist Oidiopsis auf den einzelnen Wirten ± spezialisiert.

Matouschek (Wien).

Reed, G. M., Infection experiments with Erysiphe Graminis DC. (Transactions Wisconsin Akademy. Vol. XV. p. 135—162.)

Anschließend an die Beobachtungen des Ref., Salmons und Marchals über Spezialisierung des Parasitismus bei den Erysipheen untersucht Verf. diese Verhältnisse bei E. graminis, und führte zu diesem Zweck eine Reihe von Infektionsversuchen aus. Die Resultate derselben liefern eine Bestätigung dafür, daß innerhalb der Sammelart E. graminis eine weitgehende Spaltung in biologische Arten stattgefunden hat, wie dies schon Marchal und Salmon festgestellt haben. Aus den Tabellen des Verf. seien kurz nur folgende Hauptergebnisse hervorgehoben:

Der Roggenmeltau geht nicht über auf Triticum vulgare, Avena sativa, Hordeum vulgare, H. jubatum, Bromus mollis, Poa pratensis, Poa trivialis, Poa nemoralis, Poa compressa.

Ferner: Der auf Poa pratensis wachsende Meltau läßt sich nicht übertragen auf Secale cereale, Triticum vulgare, Avena

sativa, Hordeum vulgare, H. jubatum, Bromus mollis, Lolium perenne, Dactylis glomerata, Phleum pratense, Glyceria fluitans, und nur schwer auf: Poa nemoralis, und noch schwerer auf: Poa trivialis und Poa compressa.

Neger (Tharandt).

Pollacci, G., Monografia delle Erysiphacee Italiane. (Atti R. Ist. Bot. dell' Univ. di Pavia. 2. ser. Vol. IX. Tab. 28.)

Monographie aller bisher aus Italien bekannt gewordenen Erysipheen. Sehr sorgfältig sind viele Diagnosen vervollkommnet worden, die Synonymik, Literatur und Exsiccaten stets in Gänze angeführt.

Zu Podosphaera gehören darnach 2 Arten, zu Sphaerotheca 4 Arten, zu Uncinula 5, zu Micropkaera 7, zu Erysiphe 6 und zu Phyllactinia 1.

Matouschek (Wien).

Magnus, P., Ein neues Helminthosporium. (Hedwigia. Bd. XLII. p. 222–225.)

Verf. beschreibt ein neues, von Diedicke bei Erfurt gefundenes, auf Ophioglossum vulgatum schmarotzendes Helminthosporium (H. Diedickei), welches dem auf Coronilla-Arten wachsenden Helm. Bornmülleri nahe steht. Das Mycel wächst intercellular, ohne Haustorien, tritt zwischen den Epidermiszellen nach außen, um hier Konidienträger zu bilden.

Neger (Tharandt).

Kegel, W., Varicosporium Elodeae, ein Wasserpilz mit auffallender Konidienbildung. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft. Bd. XXIV. p. 213—216. Mit 3 Textfiguren.)

Auf absterbenden Elodea-Sprossen wächst diese neue Art, deren Reinkultur gelang. Die Konidien fallen in Verbänden von je 2—5 ab und haben das Aussehen von sonderbaren Schriftzeichen. Vielleicht kann diese merkwürdige Anordnung als Schwebeeinrichtung hingestellt werden.

Matouschek (Reichenberg).

Schellenberg, H. C., Ueber Sclerotinia Coryli. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXIV. p. 505—511. Mit 1 Tafel.)

Auf abgefallenen Haselnußkätzchen fand Verf. den genannten Pilz. Von Ciboria bolaris ist er verschieden (größere Ascosporen); das Apothecium entspringt aus einem in der Kätzchenachse befindlichen Sclerotium. Dieses fand Verf. an Kätzchen, die im Herbste erkrankten, dann abfielen und im Winter unter der Laubschicht gedeckt lagen. Erst im Frühjahre entwickelt sich das Sklerotium weiter und bildet Apothecien, welche ganz dem Typus Stromatinia ähneln; die Konidienfruchtform ist also wohl eine Monilia und keine Botrytis. Sorauer fand auf der Cupula von noch nicht reifen Haselnüssen eine Monilia, die mit der vorstehenden wahrscheinlich identisch ist. — Der Entwickelungsgang des interessanten Pilzes ist demnach folgender:

Frühjahr: Bildung von Apothecien, Verbreitung der Schlauchsporen und Infektion der unreifen Cupula, auf der Monilia auftritt (bis Spätsommer).

Herbst: Infizierung der inzwischen angelegten ♂ Kätzchen, welche zumeist abfallen und in der Spindel das Sclerotium zur Bildung bringen.

Winter: Sclerotium unter der Laubdecke geschützt und im zeitigen Frühjahr Apothecien entwickelnd.

Matouschek (Wien).

Zahlbruckner, A., Lindauopsis, ein neuer Flechtenparasit. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft. Bd. XXIV. p. 141—146. Mit 1 Tafel.)

Diagnose der Gattung: Fungus in hymenio lichenum parasitans, hyphis dichotome divisis, flaccidis, inaequalibus (non cylindricis), decoloribus, lateraliter gemmiferis, apice furcatis, conidiis binis terminalibus, hyalinis, uniseptatis, membrana tenui et laevi cinctis.

Die Art L. Caloplacae lebt parasitisch auf den Apothecien von Caloplaca callopioma (Ach.) Th. Fr., von R. Sturany auf Kalk bei Kristallenia in Ostkreta gesammelt. Die Gattung gehört zu den Mucedinaceae-Hyalodidymeae und ist neben Didymaria Corda zu stellen, von welcher sie sich aber durch die Ausbildung der Konidien in Zweizahl und durch die wiederholt geteilten Hyphen unterscheidet.

Matouschek (Wien).

Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. II. (Arbeiten aus dem botan. Museum der kaiserl. Akademie d. Wissensch. zu St. Petersburg. 1906. p. 37—55.)

1) Verf. säte die Teleutosporen von Uromyces Caricis-sempervirentis Ed. Fisch. im Herbste und im Frühjahr auf Phyteuma orbiculare aus. Ein Erfolg zeigte sich erst im nächstfolgenden Frühjahr; auf den Phyteuma-Blättern hatte sich Aecidium Phyteumatis Ung. entwickelt.

2) Die Aussaat von Puccinia Cynodontis Desm. auf Plantago lanceolata ergab Aecidium Plantaginis.

3) Das merkwürdigste Resultat ergaben die Kulturversuche mit Puccinia Isiacae (Thuem.) Wint. Diese Art brachte in der Kultur Aecidien auf Lepidium Draba, campestre, perfoliatum, Barbaraea vulgaris, Erysimum cheiranthoides, Nasturtium palustre, Thlaspi arvense, Sisymbrium Sophia, Capsella bursa-pastoris, Stellaria media, Spinacia oleracea, Anethum graveolens, Valerianella olitoria, Myosotis intermedia, Galeopsis Tetrahit, Lamium purpureum, Veronica arvensis, Cleome spinosa hervor, also zum Teil auf Nährpflanzen, auf welchen vordem nie Aecidien beobachtet worden sind. Ein ähnliches Verhalten ist erst kürzlich für die nordamerikanische Puccinia subnitens Diet., welche auf Distichlis lebt, nachgewiesen worden. Auch diese Art bildet ihre Aecidien auf den mannigfachsten Pflanzen aus.

4) Arthur hatte nachgewiesen, daß in Nordamerika Puccinia Maydis Bér. ihre Aecidien auf Oxalis ausbildet. Durch die Kulturversuche des Verf. ergab sich, daß der Maisrost auch in Rußland, und somit auch wohl im übrigen Europa, seine Aecidien auf derselben Pflanze bildet.

5) Eine Puccinia auf Carex limosa ruft Aecidien auf Trientalis europaea hervor. Die Art wird Puccinia karelica Tranzsch. benannt.

6) Aussaatversuche mit Chrysomyxa Woronini Tranzsch., Puccinia oblongata (Link) Wint. und Pucc. Sesleriae Reichardt ergaben kein Resultat.

7) Das auf Cerinthe minor lebende Aecidium dürfte, wie aus Beobachtungen in der Natur zu schließen ist, zu einer Puccinia auf

Agropyrum trichoporum gehören. Verf. benennt den Pilz bereits Pucc. Cerinthes-agropyrina.

8) Ein Aecidium auf Inula grandis (= Aecid. Inulae-Helenii Const.?) scheint mit einer Puccinia auf Phragmites metagenetisch verbunden zu sein (Pucc. Inulae-phragmiticola).

9) Aecidium Dracunculi Thuem. bildet die zugehörigen Teleutosporen vermutlich auf Carex stenophylla aus.

10) Ferner spricht Verf. die Vermutung aus, daß das Aecidium der Puccinia monticola Kom. auf Geranium collinum, dasjenige von Pucc. Veratri Duby. auf Epilobium vorkommen dürfte.

H. Sydow (Schöneberg).

Arthur, J. C., New genera of Uredinales. (Journal of Mycology. Vol. XIII. 1907. p. 28—32.)

Es werden 4 neue Genera aufgestellt, die aber wohl kaum als solche anerkannt werden: 1) Polioma, gegründet auf Puccinia nivea Holw. Hierzu wird Puccinia griseola Lagerh. und die neue Art Polioma delicatula Arth. (auf Salvia elegans) gerechnet; 2) Spirechina, gegründet auf Uredo Loeseneriana P. Henn.; 3) Prospodium, gegründet auf Puccinia appendiculata Wint. und Pucc. Amphilophii D. et H.; 4) Nephlyctis, gegründet auf Puccinia elegans Schröt. und Pucc. transformans Ell. et Ev.

Matouschek (Wien).

Eriksson, Die wahre Bedeutung der Berberitze für die Verbreitung des Getreiderostes. (Illustr. landw. Ztg. 1907. No. 41.)

Verf. schildert zunächst die älteren Ansichten in dieser Frage, welche in einem langdauernden heftigen Streit über die Schädlichkeit des Berberitzenstrauches für die Getreidefelder zum Ausdruck kamen. Im Jahre 1864 erbrachte dann de Bary den Nachweis, daß ein Uebertritt des Rostes vom Getreide auf die Berberitze und umgekehrt möglich ist, und daß daher die an den Blättern der Berberitze auftretende Rostart nur eine Entwickelungsstufe des Getreiderostes (Puccinia graminis) darstellt. Mit diesen Versuchen war der erste entscheidende Beweis für den Wirtswechsel dieser Pilze erbracht. Nachdem es sich herausgestellt hatte, daß durch die Beseitigung der Berberitzen tatsächlich an manchen Stellen ein Abnehmen des Getreiderostes erreicht wurde, begann in mehreren Staaten die Gesetzgebung die Ausrottung der Berberitzen vorzuschreiben.

Schon bald wurde jedoch davor gewarnt, die Schädlichkeit der Berberitzen zu übertreiben, und Julius Kühn erklärte in einem im Jahre 1875 erstatteten Gutachten, „daß die Verbreitung des Getreiderostes im großen und ganzen sich gar nicht mit dem allgemeinen, bezw. seltenen Auftreten der Berberitze decke.“ In neuerer Zeit sind zahlreiche Fälle von bedenklichen Schwarzrostverwüstungen auch an solchen Stellen bekannt geworden, die von jeder Berberitze weit entfernt lagen. Die eigenen Erfahrungen des Verf. bestätigen diese Beobachtungen. Er ist der Ansicht, daß die Berberitze in einem für die Praxis recht belanglosen Grade als Vermittler der Uebertragung und Verbreitung von Rost in Frage komme.

Von den 7 bisher bekannt gewordenen biologisch verschiedenen Schwarzrostformen vermögen 6 auch auf der Berberitze Rost zu erregen,

nur dem Rost des Timotheegrases geht diese Fähigkeit ab. Der Berberitzenrost ist aber wieder nur auf diejenigen Gräser und Getreidearten übertragbar, durch welche er verursacht wurde. Ein Berberitzenstrauch wird also vorzugsweise nur das Getreide gefährden, welches im Vorjahre auf dem Felde angebaut wurde, das aber infolge der üblichen Wechselwirtschaft im 2. Jahre nicht wieder folgen wird. Die Gefährlichkeit der Berberitze als Krankheitsverbreiterin wird ferner durch die oft sehr geringe Keimfähigkeit der Berberitzenrostsporen vermindert, und schließlich hat es sich gezeigt, daß die Fähigkeit, die Ansteckung weiter zu verbreiten, mit der Entfernung schnell abnimmt.

Verf. meint daher, daß der Berberitzenstrauch an vielen Orten, besonders in städtischen Park- und Gartenanlagen, erhalten werden kann. Auf dem platten Lande wird er dagegen an Eisenbahndämmen, Landstraßen und Wegen, in kleineren Gärten, am Rande der Wälder u. s. w. ohne Erbarmen in einer Entfernung von 25 m vom nächsten Getreidefeld auszurotten sein. Vogel (Bromberg).

Hecke, L., Infektionsversuche mit Puccinia Maydis Béreng. (Annales mycologici. Vol. IV. No. 5. p. 418—420.)

Während Arthur (The aecidium of Maize Rust. Bot. Gaz. Vol. XXXVIII. 1904) von dem auf Oxalis cymosa Small vorkommenden Aecidium ausging, benützte Verf. die Teleutosporengeneration für die Versuche. Das Material blieb im Winter im Freien, es keimte im Frühling sehr gut und blieb von dieser Zeit an trocken im Zimmer aufbewahrt. Im Mai wurden Infektionsversuche auf Oxalis stricta, tropaeoloides, valdiviana, rosea und Bowiei ausgeführt; Oxalis cymosa stand nicht zur Verfügung. Schon wenige Tage nach der Infektion erschienen weißliche Flecken auf den Blättern, dann traten Spermogonien und nach im ganzen 12 Tagen Aecidien auf. Auf Oxalis stricta ergaben die wiederholten Versuche gute Resultate. Also auch auf diesem Wege wird nachgewiesen, daß Puccinia Maydis heterözisch ist und das Aecidium Oxalidis erzeugt. Am stärksten wurde Oxalis stricta infiziert, schwächer und langsamer Ox. tropaeoloides, noch viel schwächer auf den zwei anderen oben genannten Arten. Mit den auf Oxalis stricta erhaltenen Aecidien wurde die Rückinfektion auf Mais gemacht, welche nach etwa 8 Tagen regelmäßig und reichlich Uredo hervorbrachte. Eine zweite Frage war: Ist eine direkte Infektion des Maises durch Teleutosporen möglich, wie dies Kellermann 1904 auf Grund von nur 3 Infektionsversuchen behauptete? Verf. experimentierte mit dem gleichen guten Teleutosporenmateriale, aber stets ohne Erfolg, die Uredoform erhielt er nicht. Daher ist die Möglichkeit einer direkten Infektion der Maispflanze durch Teleutosporen noch nicht bewiesen. Da Aecidien auf Oxalis in Amerika selten, in Europa nur einmal (Aecid. Peyritschianum P. Mag.) gefunden sind, so haben wir im Maisrost ein besonders deutliches Beispiel für die Unzulänglichkeit einer Erklärung der Rostepidemien durch die Heterözie.

Es werden zum Schlusse noch zwei andere Möglichkeiten für das Auftreten von Maisrost erwogen (Arthur anlehnend an Bolley, und Klebahns und Erikssons Ansicht von einem inneren Krankheitskeime), und hier muß nun noch die Sonde angelegt werden.

Matouschek (Wien).

Agropyrum trichoporum gehören. Verf. benennt den Pilz bereits Pucc. Cerinthes-agropyrina.

8) Ein Aecidium auf Inula grandis (= Aecid. Inulae-Helenii Const.?) scheint mit einer Puccinia auf Phragmites metagenetisch verbunden zu sein (Pucc. Inulae-phragmiticola).

9) Aecidium Dracunculi Thuem. bildet die zugehörigen Teleutosporen vermutlich auf Carex stenophylla aus.

10) Ferner spricht Verf. die Vermutung aus, daß das Aecidium der Puccinia monticola Kom. auf Geranium collinum, dasjenige von Pucc. Veratri Duby. auf Epilobium vorkommen dürfte.

H. Sydow (Schöneberg).

Arthur, J. C., New genera of Uredinales. (Journal of Mycology. Vol. XIII. 1907. p. 28—32.)

Es werden 4 neue Genera aufgestellt, die aber wohl kaum als solche anerkannt werden: 1) Polioma, gegründet auf Puccinia nivea Holw. Hierzu wird Puccinia griseola Lagerh. und die neue Art Polioma delicatula Arth. (auf Salvia elegans) gerechnet; 2) Spirechina, gegründet auf Uredo Loeseneriana P. Henn.; 3) Prospodium, gegründet auf Puccinia appendiculata Wint. und Pucc. Amphilophii D. et H.; 4) Nephlyctis, gegründet auf Puccinia elegans Schröt. und Pucc. transformans Ell. et Ev.

Matouschek (Wien).

Eriksson, Die wahre Bedeutung der Berberitze für die Verbreitung des Getreiderostes. (Illustr. landw. Ztg. 1907. No. 41.)

Verf. schildert zunächst die älteren Ansichten in dieser Frage, welche in einem langdauernden heftigen Streit über die Schädlichkeit des Berberitzenstrauches für die Getreidefelder zum Ausdruck kamen. Im Jahre 1864 erbrachte dann de Bary den Nachweis, daß ein Uebertritt des Rostes vom Getreide auf die Berberitze und umgekehrt möglich ist, und daß daher die an den Blättern der Berberitze auftretende Rostart nur eine Entwickelungsstufe des Getreiderostes (Puccinia graminis) darstellt. Mit diesen Versuchen war der erste entscheidende Beweis für den Wirtswechsel dieser Pilze erbracht. Nachdem es sich herausgestellt hatte, daß durch die Beseitigung der Berberitzen tatsächlich an manchen Stellen ein Abnehmen des Getreiderostes erreicht wurde, begann in mehreren Staaten die Gesetzgebung die Ausrottung der Berberitzen vorzuschreiben.

Schon bald wurde jedoch davor gewarnt, die Schädlichkeit der Berberitzen zu übertreiben, und Julius Kühn erklärte in einem im Jahre 1875 erstatteten Gutachten, „daß die Verbreitung des Getreiderostes im großen und ganzen sich gar nicht mit dem allgemeinen, bezw. seltenen Auftreten der Berberitze decke.“ In neuerer Zeit sind zahlreiche Fälle von bedenklichen Schwarzrostverwüstungen auch an solchen Stellen bekannt geworden, die von jeder Berberitze weit entfernt lagen. Die eigenen Erfahrungen des Verf. bestätigen diese Beobachtungen. Er ist der Ansicht, daß die Berberitze in einem für die Praxis recht belanglosen Grade als Vermittler der Uebertragung und Verbreitung von Rost in Frage komme.

Von den 7 bisher bekannt gewordenen biologisch verschiedenen Schwarzrostformen vermögen 6 auch auf der Berberitze Rost zu erregen,

nur dem Rost des Timotheegrases geht diese Fähigkeit ab. Der Berberitzenrost ist aber wieder nur auf diejenigen Gräser und Getreidearten übertragbar, durch welche er verursacht wurde. Ein Berberitzenstrauch wird also vorzugsweise nur das Getreide gefährden, welches im Vorjahre auf dem Felde angebaut wurde, das aber infolge der üblichen Wechselwirtschaft im 2. Jahre nicht wieder folgen wird. Die Gefährlichkeit der Berberitze als Krankheitsverbreiterin wird ferner durch die oft sehr geringe Keimfähigkeit der Berberitzenrostsporen vermindert, und schließlich hat es sich gezeigt, daß die Fähigkeit, die Ansteckung weiter zu verbreiten, mit der Entfernung schnell abnimmt.

Verf. meint daher, daß der Berberitzenstrauch an vielen Orten, besonders in städtischen Park- und Gartenanlagen, erhalten werden kann. Auf dem platten Lande wird er dagegen an Eisenbahndämmen, Landstraßen und Wegen, in kleineren Gärten, am Rande der Wälder u. s. w. ohne Erbarmen in einer Entfernung von 25 m vom nächsten Getreidefeld auszurotten sein. Vogel (Bromberg).

Hecke, L., Infektionsversuche mit Puccinia Maydis Béreng. (Annales mycologici. Vol. IV. No. 5. p. 418—420.)

Während Arthur (The aecidium of Maize Rust. Bot. Gaz. Vol. XXXVIII. 1904) von dem auf Oxalis cymosa Small vorkommenden Aecidium ausging, benützte Verf. die Teleutosporengeneration für die Versuche. Das Material blieb im Winter im Freien, es keimte im Frühling sehr gut und blieb von dieser Zeit an trocken im Zimmer aufbewahrt. Im Mai wurden Infektionsversuche auf Oxalis stricta, tropaeoloides, valdiviana, rosea und Bowiei ausgeführt; Oxalis cymosa stand nicht zur Verfügung. Schon wenige Tage nach der Infektion erschienen weißliche Flecken auf den Blättern, dann traten Spermogonien und nach im ganzen 12 Tagen Aecidien auf. Auf Oxalis stricta ergaben die wiederholten Versuche gute Resultate. Also auch auf diesem Wege wird nachgewiesen, daß Puccinia Maydis heterözisch ist und das Aecidium Oxalidis erzeugt. Am stärksten wurde Oxalis stricta infiziert, schwächer und langsamer Ox. tropaeoloides, noch viel schwächer auf den zwei anderen oben genannten Arten. Mit den auf Oxalis stricta erhaltenen Aecidien wurde die Rückinfektion auf Mais gemacht, welche nach etwa 8 Tagen regelmäßig und reichlich Uredo hervorbrachte. Eine zweite Frage war: Ist eine direkte Infektion des Maises durch Teleutosporen möglich, wie dies Kellermann 1904 auf Grund von nur 3 Infektionsversuchen behauptete? Verf. experimentierte mit dem gleichen guten Teleutosporenmateriale, aber stets ohne Erfolg, die Uredoform erhielt er nicht. Daher ist die Möglichkeit einer direkten Infektion der Maispflanze durch Teleutosporen noch nicht bewiesen. Da Aecidien auf Oxalis in Amerika selten, in Europa nur einmal (Aecid. Peyritschianum P. Mag.) gefunden sind, so haben wir im Maisrost ein besonders deutliches Beispiel für die Unzulänglichkeit einer Erklärung der Rostepidemien durch die Heterözie.

Es werden zum Schlusse noch zwei andere Möglichkeiten für das Auftreten von Maisrost erwogen (Arthur anlehnend an Bolley, und Klebahns und Erikssons Ansicht von einem inneren Krankheitskeime), und hier muß nun noch die Sonde angelegt werden.

Matouschek (Wien).

Dietel, P., Ueber Chnoopsora, eine neue Uredineen-Gattung. (Annales mycologici. Vol. IV. No. 5. p. 421—423. Mit 1 Textabbildung.)

Die Diagnose der neuen Gattung lautet: Pycnidiis depressis, sub epidermide plantae nutricis immersis. Aecidiis epidermidem perrumpentibus irregularibus sine peridio; aecidiosporis catenulatis. Soris teleutosporiferis ceraceis crustaceis, sub epidermide erumpentibus nudis; teleutosporis unilocularibus, rarius septo transverso vel obliquo divisis, non omnibus in eodem soro simul maturantibus sed posterioribus inter prius formatas se immittentibus, maturatis promycelio quadriloculari mox germinantibus. 1) Chnoopsora Butleri Diet. et Syd. n. sp. (auf Adhatoda vasica in Ostindien. 2) Ch. Sancti Johannis (Barcl.) = Melampsora Sancti-Johannis Barcl. auf Hypericum cernuum. Die neue Gattung schließt sich eng an Melampsora an, doch ist besonders auffällig die Anlage der Sporen unter der Epidermis, die Sporen durchbrechen diese, sind also im Reifezustande zu nackten Krusten vereinigt. Matouschek (Wien).

Hori, S., On Ustilago esculenta P. Henn. (Annales Mycologici. Vol. V. 1907. p. 150—154. Plates VI and VII.)

Verf. fand den eigenartigen, namentlich im unreifen Zustande konsumierten Pilz in der Nähe von Nishigahara in Japan und erhielt auch Exemplare desselben von Formosa zugesandt. Die vom Brand befallenen Pflanzen unterscheiden sich von den gesunden auffällig dadurch, daß sie ihre grüne Farbe länger behalten als letztere. Die brandigen Teile erreichen bei den Exemplaren von Formosa eine Länge von 10—20 cm und eine Breite von 2—3 cm; sie sind demnach um 2—4 mal größer als wie bei den japanischen Exemplaren. Vermutlich übt das südlichere Klima diesen Einfluß auf die Wachstumsweise des Pilzes aus. Die Sporen sind nicht glatt, wie bisher angegeben wurde, sondern mit feinen Stacheln versehen. In der Keimung der Sporen erinnert der Pilz sehr an Ustilago longissima und U. grandis. Bisher wurde derselbe in China, Formosa und Japan gefunden; im letzteren Lande scheint Tokio die nördliche Grenze des Vorkommens darzustellen.

H. Sydow (Schöneberg).

Kern, F. D., The rusts of Guatemala. (Journal of Mycology. Vol. XIII. 1907. p. 18—26.)

Verf. teilt die Bestimmungen einer Anzahl Uredineen mit, welche von Kellerman in Guatemala gesammelt wurden. Es befinden sich einige interessante neue Arten darunter, nämlich

Puccinia Heliotropii auf Heliotropium indicum,
Aecidium guatemalense auf derselben Nährpflanze,
Ae. Byrsonimae auf Byrsonima crassifolia (diese Art ist jedoch mit Endophyllum? singulare Diet. et Holw., dessen Nährpflanze irrtümlich für eine Ericacee gehalten wurde, identisch),
Uredo Cabreriana auf Buettneria lateralis,
U. Trixitis auf Trixis frutescens.

H. Sydow (Schöneberg).

Liro, J. Ivar (früher J. I. Lindroth), Kulturversuche mit finnischen Rostpilzen. (Acta Soc. pro Fauna et Flora Fennica. Vol. XXIX. No. 6. 25 p.)

Die vom Verf. angestellten Kulturversuche betreffen:

Melampsora Larici-Tremulae Klebahn. Die Caeoma-Form dieses Pilzes konnte auch auf Larix sibirica erzeugt werden.

Mel. Larici-Capraearum Klebahn. Die zugehörige Caeoma-Form lebt auf Larix decidua und L. sibirica.

Puccinia Aecidii-Melampyri (Kze. et Schm.) Liro. Die Aecidienform (= Aecidium Melampyri) entwickelte eine Puccinia auf Molinia coerulea.

Pucc. Aecidii-Rumicis (Hoffm.) Liro (= Pucc. Phragmitis) bildet in Finnland Aecidien auf Rumex crispus und R. domesticus aus.

Uromyces Trifolii (Hedw. f.) Lév. kommt auf verschiedenen Trifolium-Arten vor, jedoch nicht auf T. repens. Der auf letzterer Nährpflanze vorkommende Uromyces stellt eine eigene Art dar, die sowohl biologisch wie auch morphologisch zu unterscheiden ist. Uebertragungen des Pilzes von T. repens auf T. pratense und T. hybridum konnte Verf. nicht erzielen.

Gymnosporangium clavariaeforme (Jacq.) Reess entwickelte Aecidien auf Crataegus Oxyacantha. Die Kulturversuche mit

Aecidium conorum-Piceae Rees ergaben negative Resultate.

Melampsoridium betulinum (Pers.) Kleb. Aussaaten des Pilzes auf Larix ergaben keinen Erfolg. Ebenfalls blieben die Versuche mit

Chrysomyxa Pirolae (DC.) Rostr. erfolglos. Der Pilz besitzt ein perennierendes, in den unterirdischen Teilen der Nährpflanze weiterwachsendes Mycel.

Uromyces Geranii (DC.) Wint. Die Art ist autöcisch; mit Aecidien von Geranium silvaticum stammend konnte auf derselben Nährpflanze Uredo- und Teleutosporenbildung hervorgerufen werden.

Gymnosporangium juniperinum (L.) Fr. ergab Pykniden auf Sorbus fennica.

Peridermium Pini (Willd.) Kleb. scheint, wenigstens zum Teil, zu Cronartium Pedicularis zu gehören.

H. Sydow (Schöneberg).

Miyake, T., On Puccinia parasitic on the Umbelliferae of Japan. (Journal of the Sapporo Agriculture College. Vol. II. 1906. p. 97—132. Mit 1 Tafel.)

18 Arten von Puccinia werden aus Japan auf den genannten Pflanzen genau beschrieben. Viele haben eine recht große Verbreitung (Asien, Europa, Nordamerika), andere sind ganz neu. Es sind dies: Pucc. Angelicae-edulis n. sp. auf Arten von Angelica und auf Coelopleurum Gmelini, Pucc. ligusticicola n. sp. auf Ligusticum scoticum und L. ibukiense, Pucc. Miyabeana n. sp. auf Angelica hakonensis, kiusiana und utilis und Pucc. Oenanthes (Diet.) Miy. auf Oenanthe. Dazu wird ein Aecidium Bupleuri-sachalinensis n. sp. von unbekannter Zugehörigkeit beschrieben.

Matouschek (Wien).

Jungner, Ein neuer Getreidepilz. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 3.)

Verf. stellt auf von Hylemyialarven angegriffenen Roggenblättern die Sklerotien eines neuen Pilzes Psilocybe Henningsii R. Jungner n. sp. fest. Derselbe scheint — nach den noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen — Wintergetreide schädigen zu können.

Ehrenberg (Breslau).

Traverso, G. B., La peronospora del frumento. (Sep. aus Il Raccoglitore. [2]. IV. 1906. 18 pp. mit 2 Textfig.)

Der bei Rom, Modena und Venedig bereits bekannte falsche Meltau des Weizens (Sclerospora macrospora) wurde in Italien zum ersten Male von Garovaglio und Cattaneo bei Pavia gefunden, welche ihn als Protomyces macrosporus bezeichneten. Er greift auch Mais und Hafer an und unterscheidet sich scharf von Sclero-

spora graminum, welche andere Gräser befällt. Der falsche Meltau kommt außer auf den Aehren auch auf dem oberen Halmteil und den höheren Blättern vor, die eine rostgelbliche Färbung annehmen, Verdickungen und Drehungen erfahren und leicht brüchig werden. Ueber Infektions- und Verbreitungsmodus dieses gefährlichen Parasiten ist nichts Näheres bekannt. E. Pantanelli (Rom).

Faber, F. C. v., Ueber die Büschelkrankheit der Pennisetum-Hirse. (Berichte der dentschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXIII. p. 401—404.)

Die von Busse auf Pennisetum spicatum in Deutschostafrika entdeckte, epidemisch auftretende Deformation der Fruchtrispe wird noch genauer studiert. Die Spelzen, normal 3—4 mm lang und 2 mm breit, werden 100 mm lang und 10 mm breit. Das sonst einschichtige Hypoderm wird 5—6-zellschichtig und besitzt ein unseptiertes farbloses Mycel. Ob mit demselben die im Mesophyll erscheinenden dickwandigen dunkelgefärbten Zellen mit dunklem Inhalte (nach Verf. Dauersporangien von Myxochytridiaceen) in Beziehung stehen, ist offen gelassen. Kulturen konnten leider nicht angefertigt werden. Das Mycel erzeugt aber sicher die Hypertrophien in den Spelzen. Matouschek (Wien).

Güssow, Beitrag zur Kenntnis des Kartoffelgrindes. Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1906. Heft 3.)

Nach den sich mit Rolfs Arbeiten deckenden Untersuchungen des Verf. ist bezüglich des Kartoffelgrindes

1) „Rhizoctonia Solani Kühn" als zu Rhizoctonia violacea gehörig zu streichen;

2) der Name Rhizoctonia violacea aufzugeben, da er nur das Mycel des Pilzes Corticium vagum B. et C. var. Solani Burt. bezeichnet;

3) der größte Teil des Kartoffelgrindes diesem Pilze zuzuschreiben, der bei 5° keinerlei, bei 12° wenig, dagegen bei 22° rapides Wachstum zeigt. Die wichtigsten Faktoren zur Verbreitung der Erkrankung bilden die an der Oberfläche der Knollen haftenden Sklerotien, gegen die Beize des Saatguts mit schwacher Sublimatlösung (30 g auf 45 l) anzuwenden ist. Ehrenberg (Breslau).

Shear, C. L., Peridermium cerebrum Peck and Cronartium Quercuum (Berk.). (Journal of Mycology. Vol. XII. 1906. p. 82—92.)

Peridermium cerebrum Peck ist mit Per. giganteum (Mayr.) Tubeuf aus Japan identisch. Das Peridermium, welches in Nordamerika auf 5 Pinus-Arten vorkommt, gehört zu Cronartium Quercuum, das als Uredo-Teleutosporenform auf 13 Quercus-Arten vorkommt. Dies lehren Freilandversuche.

Matouschek (Wien).

Montemartini, L., Una malattia delle Tuberose (Polianthes tuberosa) dovuta alla Botrytis vulgaris Fr. (Atti R. Ist. Bot. dell' Univers. di Pavia. 2. ser. Vol. XI. 1905.)

Die obige Botrytis-Art erzeugt auf Tuberosen in den Gewächshäusern in Pavia eine Fäule. Auf der erwähnten Art wurde eine solche bisher noch nicht bemerkt. Matouschek (Reichenberg).

Kleeberger, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1907. Heft 2.)

Aus einer Reihe von Versuchen schließt Verf. etwa folgendes:

Die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln ist eine Fäulniserscheinung, die, gewöhnlich von den Saatknollen ausgehend, leicht auch die Stengel und neugebildeten Knollen erfaßt. Uebertragung der Krankheit auf Teile gesunder Pflanzen durch erkrankte Teile ist leicht ausführbar. Die Schädigung ergreift besonders die zarten, frühen und mittelfrühen Sorten, wird anscheinend durch starke Düngung mit organischen Substanzen gefördert, und kann innerhalb der Bestände von Pflanze zu Pflanze fortschreiten, begünstigt durch kleine Entfernungen, und humusreichen Boden. 2-proz. Kupferkalkbrühe, zum Beizen des Saatguts verwendet, wird als Abhilfsmittel empfohlen. Ehrenberg (Breslau).

Delacroix, G., Recherches sur quelques maladies du tabac en France. (Annales de l'Institut national agronomique, Paris: Série 2. T. V. Fasc. 1. p. 92. 17 fig.)

In seiner kleinen Arbeit, die sich mit den verschiedenen Krankheiten und pathologischen und teratologischen Mißbildungen des Tabaks beschäftigt, bespricht Verf. die letzten wissenschaftlichen Ergebnisse und gibt eine Geschichte jeder einzelnen Krankheit.

A. Bakterieller Krebs: Die Ursache der Krankheit ist ein Bakterium aus der Gruppe der fluoreszierenden Bakterien, das vom Verf. unter dem Namen Bacillus aeruginosus beschrieben wird.

B. Bakterielle Eiterungen nach Insektenstichen. Die Eiterungen am Blütenhals des Tabaks werden verursacht durch den Bacillus tabacivorus; der Bacillus putrefaciens putridus ruft die Eiterung des Markes und wahrscheinlich auch die Eiterung der Sämlinge hervor.

C. Der Brand oder die echte Mosaikkrankheit ist vom Verf. ausführlich untersucht worden; er faßt die sehr auseinandergehenden Ansichten der Gelehrten zusammen und bespricht sie. Mayer, E. Marchal, Koning, van Breda de Haan greifen zur Hypothese eines Bakteriums, das sich weder züchten noch sichtbar machen läßt. Beijerinck glaubt an die Existenz eines Contagium vivum, das jedoch nicht organisiert ist, von dem er auch weder die Natur noch den Ursprung hat bestimmen können. Woods, Heintzel nehmen die schädliche Wirkung oxydierender Diastasen an, ohne jedoch zu zeigen, daß sie die biologischen Eigenschaften besitzen, die sie ihnen beilegen. Andere Gelehrte endlich greifen ganz einfach zu der Hypothese von ungünstigen Witterungseinflüssen: Sturgis, O. Comes, Mme. Pirazzoli. Schließlich erklärt Hunger die Krankheit des Brandes durch die Wirkung eines Toxins, das in den Zellen entsteht.

Nach der Ansicht des Verf. tritt die Mosaikkrankheit von selbst auf, und die wahre Ursache der Erkrankung ist noch unbekannt. Keine Hypothese ist auch nur einstweilig annehmbar.

D. Die weiße Fleckenkrankheit. Die Erkrankung ist ebenso häufig wie der Brand und tritt oft mit ihm zugleich auf, was lange Zeit zu Verwechselungen Veranlassung gegeben hat. Verf. konnte einen Mikroorganismus züchten und einimpfen, den er unter dem Namen Bacillus maculicola beschrieben hat.

E. Eiterung des Schaftes des Tabaks. Diese verursacht ein noch nicht beschriebener Mikroorganismus, das Fusarium tabacivorum, das dem Fusarium dianthi sehr nahe steht; es greift den Schaft des Tabaks nahe am Blütenhals an, und führt zu einem Gelbwerden, weiter zu einer raschen Verwelkung der Pflanze.

F. Sklerotienkrankheit des Tabaks, nach dem Verf. mit Sicherheit hervorgerufen durch Sclerotinia Libertiana.

G. Krankheit des weißen Tabaks, die nicht parasitären Ursprungs zu sein scheint.

H. Roste des Tabaks: nicht parasitäre; bakterielle; Mycelroste; (hervorgerufen durch Alternaria tenuis, Ascochyta Nicotianae).

K. Albinismus und Buntfärbung; Chlorose; teratologische Veränderungen der Blätter.

Houard (Paris).

Leclere du Sablon, Sur la reproduction du figuier. (Comptes Rendus de l'Académie des sciences. Paris. T. CXLIII. p. 756—757.)

Es ist bekannt, daß die Feigenbäume zwei Arten weiblicher Blüten haben. Die eine, langgriffelige Art findet sich bei den meisten eßbaren Feigen und besonders bei den Smyrnafeigen, die gewöhnlich entwickelte Kerne haben. Die anderen, kurzgriffeligen sind bei gewissen Feigenarten, den sogenannten Bocksfeigen, anzutreffen, deren Früchte im allgemeinen nicht genießbar sind. Die Ovarien dieser Blüten entwickeln sich auch, enthalten jedoch statt der Kerne die Larve eines Insektes aus der Familie der Blastophagae, die zur Pollenentwickelung des Feigenbaumes den Anreiz gibt; dies sind, wie man zu sagen pflegt, die sogenannten Gallenblüten. Die geringen Abmessungen des Griffels gestatten dem Blastophagen dadurch, daß er seinen Eileiter in die Oeffnung hineinführt, in den Fruchtboden sein Ei hineinzulegen; das ist ihm aber nicht möglich, wenn der Griffel lang ist. Man könnte also sagen, daß der kurze Griffel eine Anpassung an die Symbiose des Feigenbaumes mit dem Blastophagen bedeutet.

Die Autoren, die sich bisher mit dieser Frage beschäftigt haben, haben angenommen, daß eine vollkommene Trennung dieser beiden Arten von Blüten bestünde: Die langgriffeligen Blüten, die zur Bildung von Kernen geeignet wären, sollten unfähig sein, den Blastophagen aufzunehmen, während die kurzgriffeligen Blüten, die der Symbiose mit dem Blastophagen angepaßt wären, zur Bildung von Kernen unfähig sein sollten.

Eine Untersuchung von Bocksfeigenbäumen, die in den Departements Gard, Vaucluse und Ardèche wild wachsen, hat ergeben, daß in dieser Gegend Blastophagen normalerweise vorkommen, eine Tatsache, die noch nirgends erwähnt war. Bei Feigen der dritten Ernte eines solchen Bocksfeigenbaumes, das heißt bei Feigen, die den Winter am Baume überdauern, und im Frühjahr reifen, hat Verf. mitten unter von Blastophagen bewohnten Gallenblüten zahlreiche andere gefunden, die wohlentwickelte Kerne mit Embryo und Eiweiß, ebenso wie bei den Smyrnafeigen, enthielten: und zwar waren diese Blüten, die Kerne erzeugt hatten, ebenso wie die Gallenblüten solche mit kurzem Griffel.

Diese Beobachtungen zeigen erstens, daß die Bocksfeigen nicht nur in den Herbstfeigen, sondern auch in den Winterfeigen Kerne bilden können, was noch nicht bekannt war. In zweiter Linie beweist die Bildung von Kernen seitens kurzgriffeliger Blüten, daß die Spezialisierung von zwei Arten weiblicher Blüten nicht vollständig ist, zum

mindesten, was die kurzgriffeligen Blüten betrifft. Diese sind ebenso befähigt, Kerne zu bilden, wie Blastophagen zu ernähren. Der Bocksfeigenbaum ist also nicht bloß, wie man es oft tut, als männliches Feigenbaumindividuum zu betrachten, dessen Aufgabe darin bestünde, Pollen zu erzeugen und das Insekt zu ernähren, das zur Uebertragung dieses Pollens auf ein weibliches Individuum bestimmt ist. Er ist eine eigene Pflanze, mit männlichen Blüten und normal gebauten weiblichen Blüten, und kann so als Vertreter einer eigenen Species angesehen werden.

Houard (Paris).

Silva, E., Sul Roncet delle viti americane in Portoferrajo. (Bullettino d. Ministero di Agricultura. Seri II. Anno IV. Vol. I. p. 90—95.)

Die Ursache der eigentümlichen Erkrankung amerikanischer Reben, welche in neuerer Zeit in Italien, insbesondere in Sizilien, eine zu befürchtende Verbreitung erreicht hat, möchte Verf. im tiefen Rückschneiden des Rebstockes sehen, wodurch tiefgreifende Nekrose und Anhäufung von Gerbstoff sowie anderen Giftstoffen erfolgt, welche dann die ganze Ausgestaltung beeinflussen und Rachitismus hervorrufen. Das Köpfen des nekrotisierten Stockes im Frühling unter Bepinselung der Wunde mit 25 Proz. Ferrosulfat und 2 Proz. Kupfersulfat veranlaßt die Bildung normaler Sprosse, wie Verf. durch sorgfältige Versuche feststellen konnte. Eine solche Heilung wird durch Köpfen nicht erzielt, wenn die Krankheit das letzte Stadium bereits erreicht hatte. Die Reinigung der Schnittwunden mit verschiedenen Antiseptika läßt dagegen keinen Vorteil erkennen, eher kommt man durch komplexe Düngung zum Ziel. Auf veredelten Stöcken nimmt die Krankheit bald zu, bald ab.

Pantanelli (Rom).

Butler, E. J., The wilt disease of pigeon pea and pepper. (The agricult. Journal of India. I. Calcutta 1906. p. 1.)

In Indien zeigt Cajanus indicus und Piper eine Krankheit, die sich im Dürrwerden und endlichen Absterben der Stengel und Aeste kundgibt. Als Ursache wurden Nectria-Arten gefunden, deren Mycelfäden an dem Grunde der Pflanzen im Holze und in der Rinde leben und ein Schwarzwerden der Gewebe erzeugen.

Verf. beobachtete außer den Perithecien auch Nebenfruchtformen, die zu Cephalosporium und Fusarium gehören.

Matouschek (Wien).

Hollrung, M., Ueber die Krankheiten der Zuckerrübe, welche in enger Beziehung zu deren Kultur stehen. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1907. p. 164.)

Verf. zeigt an bestimmten Beispielen, daß mißratene bezw. kranke Rüben sehr häufig ebensosehr auf das Konto widriger Außeneinwirkungen wie auch auf das einer noch nicht ganz befriedigenden Behandlungsweise der Zuckerrübe zu setzen sind. Es wird dargetan, daß die Zuckerrübe drei ziemlich gut charakterisierte Entwickelungsphasen: 1) die Jugendzeit, 2) den Körperaufbau und 3) die Periode der Zuckereinspeicherung durchläuft, unter Hervorhebung aller derjenigen Kulturmerkmale, welche notwendig sind, um bestimmten Krankheiten entgegenzutreten resp. vorbeugen zu können. In der ersten Lebensperiode der Zuckerrübe, in der der Wurzelbrand als charakteristische Krankheit auftritt, sind aus-

reichende Durchlüftung und Durchwärmung sowie gute Gärung des Bodens diejenigen kulturellen Forderungen, welche ständig im Auge zu behalten sind. In der Periode der Körperbildung spielt die Bodenfeuchtigkeit eine ganz gewichtige, vielfach aber nicht genügend gewürdigte Rolle und zwar in dem Sinne, daß ein Mangel an Wasser im Boden und dieser als Ursache von abnormalem Wachstum der Zuckerrübe besteht. Verf. führt die Herz- und Trockenfäule ausschließlich auf Feuchtigkeitsmangel zurück und kann daher der Ansicht, daß der Pilz Phoma betae die Krankheitsursache bildet, nicht beipflichten. Bestimmte kulturelle Maßnahmen, die angeführt werden, lassen der Trockenfäule und verwandten Erscheinungen entgegentreten. Dasselbe ist in der Periode der Zuckereinspeicherung der Fall, wo ein Maximum von Zucker bei einem Minimum von Nichtzucker nur dann erreicht wird, wenn die künstliche Zuführung von Stickstoff-, Kali- und Phosphordünger in einem harmonischen Verhältnis zu den gesamten Leistungen des Ackerbodens steht. Auch bei dem Aufschießen der Rüben, mit welcher abnormalen Erscheinung weniger eine Verschlechterung in der chemischen Beschaffenheit der Rübe als eine solche in mechanischer Beziehung durch die Verholzung der die Wurzeln durchziehenden Gefäße verbunden ist, ist die Kulturweise nicht ohne Einfluß, da Schoßrüben das Produkt einer Wachstumsstockung sind, welche durch Bodenkälte oder Trockenheit, hier und da wohl auch durch Nährstoffmangel hervorgerufen werden kann. Trockenheit und Kälte des Bodens hängen ganz wesentlich von dessen kultureller Behandlung ab; beide lassen sich bis zu einem gewissen Grade durch Bodenbearbeitung, Wahl der Düngung, Fruchtfolge u. s. w. regulieren. Auch hier zeigt sich die Notwendigkeit eingehendster Berücksichtigung der Grundlagen des Rübenbaues und ihrer Anpassung an die lokalen Verhältnisse. Stift (Wien).

Marchal, P., Rapport sur la teigne de la betterave et sur les dégâts exercés par cet insecte en 1906. (Bulletin de l'office de renseignements agricoles, Paris 1907. p. 33—38.)

Der Kleinschmetterling Lita ocellatella (Boyd.), welcher schon in früheren Jahren zuweilen als Schädling der Runkelrüben in Frankreich bemerkt wurde, hat auch im Jahre 1906 daselbst in verschiedenen Gegenden, auch in Spanien und Portugal, empfindliche Schäden verursacht. Der Schaden besteht nicht nur in einer direkten Verminderung der Ernte (im schlimmsten Falle um $^1/_4$—$^1/_3$), sondern auch darin, daß die angegriffenen Rüben im Winter dem Verderben sehr ausgesetzt sind. Veranlaßt wird dies dadurch, daß die Raupen sich nicht auf die Entblätterung beschränken, sondern auch den oberirdischen Teil der Wurzel benagen, indem sie Gänge darin fressen. Während in England nur 2 Generationen des Schmetterlings sich (auf Beta maritima) entwickeln, steigt die Generationszahl im südlichen Frankreich auf 3—5. Marchal führt die vorjährige starke Vermehrung auf die lange Dürre des Sommers zurück und glaubt, daß diese Plage nicht zu einer beständigen werden würde. Bezüglich der von Marchal vorgeschlagenen Bekämpfungsmaßregeln sei auf das Original verwiesen.

K. Friederichs (Berlin).

Korff, G., Der Kleeteufel und seine Bekämpfung. (Flugblatt Nr. 5 der königl. bayr. Agrikulturbotanischen Anstalt München. —

Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. IV. Heft 10.)

Nach einer eingehenden Beschreibung des hauptsächlich auf Klee vorkommenden Schmarotzers *Orobanche minor* Sult. werden vorbeugende Maßnahmen und direkte Bekämpfungsmaßregeln gegen denselben gegeben, die einerseits in Vermeidung der Verschleppung des Samens, Reinigung des Saatgutes, tiefer Bearbeitung des Bodens und entsprechender Düngung, andererseits aber im Anstechen und Verbrennen des Schmarotzers vor der Samenreife und Umbrechen des Feldes nach dem ersten Schnitt bestehen. Pősch (Grinád, Ungarn).

Heinricher, Beiträge zur Kenntnis der Mistel. (Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. 1907. Heft 7.)

Verf. bespricht zunächst zwei Beobachtungen, aus denen ihm hervorzugehen scheint, daß die Mistel, wie dies ja bei ihrer Eigenschaft als Nährsalzparasit nicht ganz unwahrscheinlich, durch Lichtmangel, und die damit natürlich verbundene Beeinträchtigung der Assimilation, erheblich geschädigt, ja zum Absterben gebracht werden kann. Möglicherweise spricht auch die mit starker Beschattung zusammengehende Beeinträchtigung der Transpiration dabei mit.

Auf *Pinus montana* wurde durch künstliche Infektion Wachstum von zwei Mistelpflanzen erzielt. — Weiterhin wird Schmarotzen von Mistel auf Mistel besprochen, wobei auf den Umstand verwiesen wird, daß sich das japanische *Viscum articulatum* konstant auf Parasiten aus der Gattung *Loranthus* schmarotzend vorfindet. Ein interessanter Fall, bei dem sich auf einem männlichen Mistelbusch einige Zweige mit Beeren befanden, klärte sich dahin auf, daß sich auf der männlichen Pflanze eine weibliche als sekundärer Parasit entwickelt hatte.

Bezüglich der ernährungsphysiologischen Arten und Rassen der Mistel findet Verf. im Verein mit Peyritsch, daß

1) die Föhrenmistel nicht auf Laubholz übergeht;

2) die Laubholzmistel geht nicht auf die Nadelhölzer. Eine weitgehende Spezialisierung dieser Mistelarten oder -rassen liegt zweifelsohne vor.

3) Der Uebergang der Föhrenmistel auf andere Nadelhölzer oder auf Angehörige der Gattung *Pinus* scheint sich ebenfalls schwer zu vollziehen. Ebenso scheint die Uebergangsfähigkeit der Laubholzmistel von einer Laubholzart auf die andere doch weitgehend eingeengt, und vielfach mit Schwierigkeiten verbunden. Nach Ansicht des Verf. wird ganz besonders die Plasmabeschaffenheit des Parasiten einerseits, des Wirtes andererseits von maßgebender Entscheidung sein, und man hat so bei der Mistel in der Tat mit einer Arten- und Rassenbildung zu rechnen, die einen ziemlich weiten Kreis umfaßt.

Es folgen nun Beiträge zur Morphologie der Mistel, und ein Bericht über die Aufzucht der Mistel auf *Nerium Oleander* durch Peyritsch, wobei sich auf einem im Topf kultivierten Wirte die Mistel 30 Jahre lang lebend erhalten ließ. Ehrenberg (Breslau).

Gutzeit, Ernst, Die Beschädigungen der landwirtschaftlichen Kulturgewächse in Ostpreußen während der Vegetationsperiode 1904/05. (Arbeiten der Landwirtschaftskammer für die Provinz Ostpreußen. No. 15. Königsberg 1906.)

In der Einleitung behandelt der Verf. die Organisation des Pflanzenschutzes in Ostpreußen und gibt sodann eine Uebersicht über die in der Provinz 1904/05 herrschende Witterung, um darauf in der Darstellung der Pflanzenschäden häufig Bezug zu nehmen. Aus der Menge der über die Schäden gebrachten Einzelheiten sei hier nur einiges hervorgehoben. Zur wirksamen Bekämpfung des Rapsglanzkäfers (Meligethes brassicae) wird möglichst vollständige Ausrottung des Hederichs empfohlen, weil der Käfer und seine Larve auch von diesem und den verwandten Cruciferen leben und durch massenhaftes Vorkommen seiner Nährpflanzen seine Vermehrung sehr gefördert werde. Der durch den Blütenstecher (Anthonomus pomorum) angerichtete Schaden belief sich in einem Teil der Fälle auf $^{2}/_{3}$. Von der Made des Apfelwicklers (Carpocapsa pomonella) waren stellenweise sogar bis 90 Proz. der Aepfel befallen. Außer diesen Schädlingen werden in der Schlußbetrachtung vom Verf. als von größerer Bedeutung hinsichtlich ihres Schadens in der betreffenden Vegetationsperiode besonders genannt: der Blattrandkäfer, Erdflöhe (sekr stark an Wruken), Mutterkorn am Roggen, endlich Ueberhandnehmen der Unkräuter sowie starke Schädigung der Kartoffeln (sowohl Kraut- als Kartoffelfäule) durch verschiedene Pilze, infolge der übernormalen Niederschläge im Juli, September und Oktober. Es folgt hierauf ein Abdruck einer früher vom Verf. an anderer Stelle gegebenen Uebersicht der 1903/04 entstandenen Beschädigungen und drei Flugblätter. Von diesen behandelt das erste den sogenannten Erdfloh an Erbsen der Praktiker; es handelt sich dabei um den Blattrandkäfer, Sitones lineatus. Das zweite Flugblatt gilt dem Rapsglanzkäfer und dem Verborgenrüßler des Rapses und Rübsens (Centorrhynchus assimilis), das dritte der Cassida nebulosa als Rübenschädling.

K. Friederichs (Berlin).

Mayer Gmelin, Ueber das Auftreten von Tylenchus devastatrix in Lupinen und die Bedeutung dieser Tatsache für die landwirtschaftliche Praxis. (Deutsche landw. Presse. 1906. No. 46.)

Die Bekämpfung von Tylenchus auf leichten, für den Roggenbau besonders geeigneten Böden kann erfolgreich nur geschehen durch Einführung einer Pflanze in den Fruchtwechsel, welche von den Stengelälchen nicht befallen wird. Wenn dann der Boden noch möglichst frei von Unkraut gehalten wird, dann kann man hoffen, den Parasiten allmählich zum Verschwinden zu bringen. Verf. glaubte, daß sich vielleicht die Lupine als nicht empfänglich für Tylenchus erweisen würde, und als Hilfsmittel zur Sanierung stark mit diesem Schädling befallener Roggenschläge dienen könnte. Es wäre dies um so wertvoller gewesen, als gerade die Lupine zum Zwecke der Gründüngung auf leichten Roggenböden vielfach angebaut wird. Verf. sah sich aber in dieser Erwartung getäuscht. Bei einigen Versuchen zeigte sich die Lupine sogar in hohem Grade empfänglich gegen das Befallenwerden mit Tylenchus, sie scheint in manchen Fällen die Ausbreitung dieses Schädlings geradezu zu befördern. Auf Boden, auf welchem der Roggen unter der Stockkrankheit leidet, sollten also Lupinen nicht zum Zwecke der Gründüngung angebaut werden, weil hier die Gefahr besteht, daß beim Einpflügen der befallenen Lupinen wieder große Mengen des Parasiten dem Boden zugeführt werden.

Vogel (Bromberg).

Houard, C., Les cécidies et les cécidozoaires des Bruyères. (Comptes rendus de l'association franç. pour l'avancement des sciences, Congrès de Cherbourg, 1905. p. 525–528. 10 fig.)

Dieser Aufsatz bildet eine Zusammenfassung der Haidececidien, deren Zahl sich nach den neueren Arbeiten der Cecidologen in der Mittelmeergegend erheblich vermehrt hat. Verf. teilt sie in zwei Klassen ein, je nachdem sie von einer oder von mehreren Larven erzeugt werden. Aus der ersten Gruppe (eine einzige Larve in jeder Galle) sind bis jetzt bekannt: a) Die Galle der Perrisia Zimmermanni auf Erica arborea. b) Die Gallen der Myricomyia mediterranea auf Erica arborea, E. vagans und E. peduncularis; eine besondere hutfederartige Form wurde in Portugal auf E. scoparia, E. australis und E. aragonensis gefunden. c) Cecidien der Perrisia ericina auf E. carnea, E. arborea, E. vagans, E. aragonensis und australis. d) Eine ziemlich ähnliche Galle, die auf eine Cecidomyidenlarve zurückzuführen ist, auf Erica australis.

Die Gallen der zweiten Gruppe beherbergen jede mehrere Larven. c) Cecidie der Perrisia Broteri auf Erica ciliaris und e) Galle der Perrisia ericaescopariae auf Erica scoparia und E. arborea in der Mittelmeergegend.

Außerdem können die Blüten der E. vagans und der Erica arborea Larven beherbergen und sich in Gallen umwandeln.

Houard (Paris).

Houard, C., Cécidies produites par le Perrisia capsulae Kieff., sur l'Euphorbia Cyparissias L. (Marcellia. Rivista internaz. di Cecidologia, Avellino. T. V. 1906. p. 61—65.)

In diesem kurzen Aufsatze faßt der Verf. seine gesamten Beobachtungen über die Gallen zusammen, die von den Larven einer Cecidomyide, der Perrisia capsulae, erzeugt werden.

A. Ein erstes Cecidium nimmt die Gestalt einer 5—8 mm hohen Flasche an; sie wird auf Kosten der Blütenscheide der Pflanze erzeugt. Dieses Cecidium ist manchmal abgeplattet oder aufgetrieben, oder bisweilen ganz unregelmäßig. Stets werden die Fortpflanzungsorgane (männliche und mittlere weibliche Blütenteile) in ihrer Entwickelung gehemmt und unterliegen sehr interessanten Erscheinungen einer indirekten parasitären Kastration.

B. Eine zweite Art von durch die Perrisia capsulae erzeugten Cecidien hat die Gestalt einer Kapsel und entsteht an den Enden der Blättertriebe der Pflanze.

Verf. schließt seinen Aufsatz mit einem Vergleiche der beiden Gallenarten und zeigt dabei, daß sich die Gallenwand immer von einer Verschmelzung der Blattorgane ableiten läßt, da die Blütenscheide der Wolfsmilcharten als aus miteinander verschmolzenen Deckblättern gebildet betrachtet werden kann. Eine histologische Untersuchung der Wand beider Cecidien führt zu demselben Schlusse.

Houard (Paris).

Houard, C., Contribution à la faune cécidologique de la Bretagne. (C.-R. association française pour l'avancement des sciences, Congrès de Cherbourg, 1905. p. 584—585.)

Die Fauna der großen bretannischen Halbinsel ist ganz besonders interessant. Deshalb hielt es der Verf. für wünschenswert, die

Arbeiten von Dujardin, Abbé Maurin, Ballé, Marchal, Molliard u. A. zu ergänzen und auf dem Cherbourger Kongreß auf einige cecidienerzeugende Insekten und Milben hinzuweisen, die M. Kollmann in der Nähe von Nantes und der Verf. selbst in der Umgebung von Saint-Lô (Manche) gesammelt haben.

Das vorliegende Verzeichnis enthält nur die beinahe überall verbreiteten Cecidiozoen der gewöhnlichen Gallen; interessant ist jedoch, Nanophyes Durieui, in Nordostfrankreich anzutreffen.

Zum Schluß folgt ein Verzeichnis von Hymenopteren (16 Cynipiden, 2 Tenthreidiniden), Dipteren (32 Cecidomyiden, 2 Musciden), Hemipteren (8 Aphididen, 1 Psyllide), Coleopteren (1 Curculionide) und Acarien (13 Eriophyiden). Houard (Paris).

Houard, C., Les galles de l'Afrique occidentale française. III. Cécidies du Dialium nitidum Guill. et Perr. IV. Cécidies de Khaja, de Parinarium et de deux Graminées. (Marcellia, Rivista internaz. di Cecidologia. Avellino. T. V. 1906. p. 3—22. 23 Fig.)

III. Dialium nitidum ist eine zu den Caesalpiniaceen gehörige Leguminose aus der Familie der Kassien, die sich als besonders reich an Zoocecidien erwiesen hat. Zuerst beschreibt der Verf. vom morphologischen und anatomischen Standpunkte aus eine Galle der Aeste, die aus kleinen einkammerigen Anschwellungen besteht, die oft in großer Zahl an einem Zweige zusammen sitzen. Die Kammern der Larven, deren jede eine kleine Cynipidenlarve enthält, sind zum Teil in die Holzschicht eingesenkt und von einer dicken Lage sekundären, anormalen Holzes eingehüllt. Dieses pathologische Holz enthält in auseinandergehenden Reihen angeordnete Zellen mit unregelmäßig verholzten und wenig dicken Wänden.

Drei andere Gallenarten kommen auf den Blättern von Dialium vor; die größte hat die Gestalt einer kleinen Kugel von 3 mm Durchmesser, die auf der Oberfläche der Blätter mit einem kurzen Stiel befestigt ist. Ein Blatt kann bis 80 derselben beherbergen. Eine andere, elliptische Galle, die immer in geringer Anzahl am Rande auf der Unterfläche sitzt, hat eine Länge von 3,3 mm. Die dritte Form endlich besteht aus einer bläschenförmigen Galle, die einen Millimeter im Durchmesser nicht überschreitet.

IV. Im 2. Kapitel bespricht der Verf. nacheinander sechs Gallen.

1. Blattcecidium bei Khaja senegalensis. — Jede Galle springt an beiden Seiten des Randes erheblich hervor, wo sie als ein mit der Hauptachse senkrecht zur Blattfläche stehender Cylinder in Erscheinung tritt. Eine große, an der Unterfläche offene Höhlung nimmt die Stelle der Gallenachse ein.

Verf. hat dieses Cecidium anatomisch untersucht; es besitzt folgende Eigenschaften: Verlängerung der Mesophyllzellen senkrecht zur Oberfläche des Randes; lebhafte Wandbildung um die Larvenhöhle herum, wodurch ein Nährgewebe gebildet wird; Versorgung des ganzen Gallengewebes mit langen verholzten Gefäßen.

2) Blattcecidium bei Parinarium senegalense. — Kleines Cecidium von der Gestalt einer flachen Scheibe, 3,5 mm im Durchmesser haltend, an die Gallen von Neuroterus erinnernd.

3) Achsencecidium bei Parinarium senegalense. — Eiförmige Anschwellung der Zweige, 5 mm im queren Durchmesser.

4) Blütencecidium bei Parinarium senegalense. — Die Blüten sind angeschwollen und in rundliche, unregelmäßige, oft miteinander verschmolzene Massen verwandelt; weite Larvenhöhle.

5) Endcecidium bei Cynodon Dactylon. — Das Aeußere dieser Gallen läßt einen Vergleich zu mit denen, die die Lonchaea lasiophthalma auf Kosten der europäischen und algerischen Quecke erzeugt.

6) Achsencecidium bei Aristida stipoides. — Dieses schöne Gras zeigt unterhalb der Knoten im Innern der Blattscheiden sehr dicke, fast runde Gallen, die grüngefärbt, von glatter Oberfläche und bis zu 18 und 20 mm im Durchmesser groß sind. Mehrere Larvenhöhlen in einer Reihe nehmen das Innere der Galle ein. Bei histologischer Untersuchung durch Längs- und Querschnitte lassen sich folgende charakteristische Eigenschaften erkennen: Hyperplasie des Parenchymgewebes am Stengel; Hypertrophie, Verlängerung und Unordnung bei den innersten Bastholzbündeln; Fehlen der Stomata zugleich mit mangelnder Differenzierung der Chlorophyllzellen des Stengels.

Houard (Paris).

Houard, C., Modifications histologiques produites par des Copium dans les fleurs des Teucrium. (Marcellia, Rivista internaz. di Cecidologia, Avellino. T. V. 1906. p. 83—101. 27 fig.)

In dieser eingehenden Abhandlung hat der Verf. die äußeren morphologischen Einzelheiten und die histologischen Merkmale der Blütencecidien klargelegt, die von Copium clavicorne und Copium teucrii, zwei auf Kosten verschiedener Pflanzen aus der Familie Teucrium lebenden Hemipteren, erzeugt werden.

I. Blütencecidium auf Teucrium chamaedrys, erzeugt durch Copium clavicorne. Zuerst beschreibt der Verf. die äußere Form der Galle, die an einen kleinen Teekessel erinnert; dann geht er auf die Entstehung dieser Mißbildung ein, um schließlich im einzelnen die Höhle der abnormen Blütenkrone und das hypertrophische Pistill der Blüte anatomisch zu beschreiben. Nach seinen Untersuchungen tritt in dieser anormalen Wand eine Nährschicht auf, die sich hauptsächlich an den hypertrophischen Wülsten der Staubgefäße entwickelt. Eine indirekte parasitäre Kastration tritt also an den Staubgefäßen und dem Ovarium in Erscheinung; im letzteren Organ kommt es im besonderen zu einem Stillstand in der Entwickelung der Eichen. Das Leitungsgewebe, das normalerweise im zentralen Teile des Griffes zu finden ist, unterliegt einer richtigen Atrophie, denn es hat seine normale Aufgabe, die Pollenschläuche zu leiten, nicht mehr zu erfüllen.

II. Blütencecidium auf Teucrium montanum, erzeugt durch Copium teucrii. — Nach einer Beschreibung der Entwickelung dieser Galle, faßt Verf. ihre morphologischen und anatomischen Eigenschaften in folgender Charakteristik zusammen: 1) Erhebliche Hypertrophie des unteren Teils der Blütenkronenhöhle, die sich in eine ziemlich kugelrunde Larvenkammer umbildet. 2) Differenzierung einer Nährschicht in der Wand neben dem Cecidozoon. 3) Vollständige Atrophie der Fortpflanzungsorgane. Houard (Paris).

Houard, C., Sur une Coléoptérocécidie du Maroc. (Marcellia, Rivista internaz. di Cecidologia. Avellina. T. V. 1906. p. 32—38. 8 fig.)

Dem Verf. ist ein Umbilicus, der zweifellos U. pendulurus Dc

(Cotyledon Umbilicus L.) ist, aus Marokko mitgebracht worden; er zeigte verschiedene von Nanophyes Durieui erzeugte, interessante Gallen. Die anatomische Untersuchung einer frischen Anschwellung, die auf einem Stengel saß, ergab folgende bemerkenswerten Eigenschaften: 1) Die aktive Vergrößerung, deren Sitz der Stengel ist, zeigt zahlreiche tangentiale und radiäre Scheidewände. 2) Die Versorgung der inneren wie der äußeren hyperplasierten Gewebe mit Wasser wird bewerkstelligt durch eine bedeutende Zunahme der Zahl und der Größe der Bastholzgefäße. 3) Die unregelmäßigen Stellen des Gallengewebes, die durch die Verästelungen der Gefäßbündel voneinander getrennt sind, bestehen aus um so stärkekörnerhaltigeren Zellen, je größer die Galle überhaupt ist. Die Körner liegen häufig um die vergrößerten Kerne der Zellen herum und diese neigen deutlich dazu sich zu spalten. Gar nicht selten findet man zwei vergrößerte Kerne in ein und derselben Zelle, wie dies häufig bei den Wurzelcecidien der Fall ist, die von der Heterodera radicicola erzeugt werden. Houard (Paris).

Marchal, P., Contributions à l'étude biologique des Chermes. [Deuxième note.] Le Chermes pini Koch. (Bull. de la Société entomologique de France. Paris 1906. p. 179—182.)

Es war schon lange bekannt, daß die parthenogenetische Form des Chermes pini in zahlreichen Kolonieen auf dem Stamme und den Zweigen von gewöhnlichen Kiefern (Pinus silvestris) und P. strobus lebt; aber die Fichtenart (Picea), auf der die geschlechtsfähige Generation leben und ihre Gallen erzeugen mußte (entsprechend dem Entwickelungsgange der Species Chermes), wurde erst 1888 von Dreyfus im Kaukasus entdeckt: Diese Art ist Picea orientalis. Etwas später, 1903, beobachtete Cholodkovsky, daß diese Wanderungen nur im Heimatlande, im Kaukasus, regelmäßig vorkämen, während sie in Nordeuropa nur in einer abgeschwächten Weise in gewissen Jahren in Erscheinung träten.

Verf. hat versucht, diese Behauptung in der Umgebung von Paris bei der Picea orientalis, die man in Parkanlagen finden kann, nachzuprüfen. Die geflügelten Individuen von Chermes pini, die 1905 sehr häufig waren, wandern im Mai auf die Nadeln der jungen Triebe, bleiben dort den ganzen Juni und einen Teil des Juli festsitzen und legen ein Dutzend Eier, die sich zu Geschlechtstieren ausbilden. Diese ernähren sich an derselben Stelle unter dem Schutze, den die vertrockneten Flügel ihrer jungfräulichen Mutter gewähren, von der reichlichen, wolligen Masse, die jene abgesondert hatte. So führen sie zur vollständigen Vergilbung der Nadeln in einem um den Trieb herumgehenden Ringe, entsprechend der Stelle, wo sie sitzen. Viele dieser Geschlechtstiere werden im Laufe ihrer Entwickelung durch zahlreiche Feinde vernichtet, aber eine gewisse Zahl bis zur Geschlechtsreife gekommener Weibchen findet doch Gelegenheit, ein befruchtetes Ei unter die Schuppen zu legen, die sich am Fuße des jungen Triebes finden. Die „Fundatrix“, die aus den befruchteten Eiern ausschlüpft, setzt sich immer auf der Achse des Triebes in der Höhe der Abgangsstelle eines Blattes ziemlich weit von der Endknospe entfernt fest.

Nachdem sich diese „Fundatrices“ im Frühling gehäutet haben, sind sie in eine dicke, dichte, glänzend weiße wollige Masse eingehüllt, die sie sehr leicht auffinden läßt und kleinen Wattepfropfen ähnlich aussieht. Sie fangen ungefähr Mitte April an, braunrote Eier zu legen, aus denen

sich gegen Ende Mai Larven entwickeln, die ihrerseits die charakteristischen, meist stark rotgefärbten und dem Typus Chermes orientalis entsprechenden Gallen erzeugen. Verf. hat solche Gallen massenhaft zur Zeit ihrer Reife, gegen den 20. Juni, sammeln können.

Aus den Untersuchungen des Verf. ergibt sich also, daß die Kaukasusfichte (Picea orientalis), die man in Parkanlagen und bei Gärtnern antrifft, in unseren Breiten die geschlechtsfähige Generation des Chermes pini ebenso wie die zwei folgenden Generationen (Fundatrix, migrantes alatae) beherbergt und daß der Entwickelungsring dieser Art sich unter Verhältnissen abspielt, die den typischen des Genus Chermes gleich sind. Dieser Entwickelungsgang läßt sich ohne weiteres auf Chermes sibirius übertragen, der Wanderungen von Picea excelsa auf Pinus cembra beobachten läßt.

Erwähnt sei noch, daß Verf. niemals Gallen von Chermes orientalis auf der gewöhnlichen Fichte (Picea excelsa) gefunden hat. Andererseits konnte er eine Anzahl dieser Gallen auf jungen Pinus strobus hervorbringen, die er vorher in einem großen Gazekasten untergebracht hatte; er konnte beobachten, daß sich die geflügelten Individuen beim Ausschlüpfen aus den Gallen auf den Nadeln festsetzten.

Um Ansteckungen zu vermeiden und die Wanderungen des Parasiten einzuschränken, empfiehlt Verf., die Picea orientalis aus den Kiefernbaumschulen zu entfernen. Houard (Paris).

Schwartz, Martin, Die wichtigsten im Getreide und Futtermehl vorkommenden Käfer. (Mitteilungen der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. 1906. Stück 6. p. 46—48.)

Verwechslungen der in Betracht kommenden Käferarten untereinander haben den Verf. veranlaßt zu einer Zusammenstellung derselben mit Hervorhebung ihrer Unterschiede. Abgebildet werden die Imagines von Gnathocerus cornutus, Tribolium ferrugineum, Calandra oryzae und granaria, von cornutus und granaria auch die Larven; außerdem von der letztgenannten Art an- und ausgefressene Gerstenkörner nach photographischen Aufnahmen.

K. Friederichs (Berlin).

Wahl, Einige Versuche über den Reiskäfer (Calandra oryzae L.). (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1907. Heft 2.)

Verf. glaubt aus einer Reihe von ihm angestellter Versuche, wie auch aus geschichtlichen Momenten annehmen zu können, daß die Reiskäfer gegen unser Klima nicht widerstandsfähig sind, und daher bei uns nicht heimisch werden können. Dagegen müssen sie als schädlich auch für Deutschland und Oesterreich insofern gelten, als mit ihnen besetztes Getreide aus wärmeren Ländern minderwertig ist, und zumal bei längerem Lagern im Frühjahr sich immer mehr verschlechtert, weswegen solche Sendungen nach Möglichkeit baldigst verarbeitet werden sollten. In Warenläden, wo die Wärmeverhältnisse günstiger sind, können die Käfer sich aber auch bei uns über Winter halten, und dort so zu dauernden Schädigungen Veranlassung geben. Verf. gibt auch noch Mitteilungen über die Lebensweise des Schädlings in seinen eigentlichen, warmen Heimatsgegenden. Ehrenberg (Breslau).

Vosseler, J., Die Baumwollcikade. (Der Pflanzer. Tanga. Jahrg. I. p. 360—362.)

Eine kleine grüne Blattzirpe aus der Familie der Jassiden, in Deutschostafrika zu Millionen auf Gras und allen möglichen Pflanzen. Von diesen geht sie auf Baumwolle über. Doch befällt sie die Baumwollkulturen nur, wenn die Pflanzen bereits aus einem anderen Grunde kränkeln oder schlecht stehen. (Vergl. hierzu auch das Referat über Vosselers Mitteilung „Noch einmal die Kräuselkrankheit“.) Die Cikade saugt den Saft der Pflanzen. Ihre Eier legt sie in das pflanzliche Gewebe ab. Dieselbe Art oder eine sehr nahe verwandte spielt genau dieselbe Rolle im indischen Baumwollgebiete.

Th. Kuhlgatz (Berlin).

Vosseler, J., Wurfmäuse an Sisalagaven. (Der Pflanzer. Bd. I. p. 351.)

Ueber die Lebensweise der afrikanischen Wühlratten ist noch sehr wenig bekannt. Volkens erwähnt, daß die Wurzelratte, Rhizomys, in den Bananen-Schamben sehr selten ist. Nach Emin leben diese Tiere maulwurfsartig, graben lange Gänge in die Erde und werfen wie jene Haufen auf. Neben dieser Gattung findet sich eine zweite, der Erdbohrer, Georhychus, der kleine Erdbohrer, und eine dritte, Myoscalops, der große Erdbohrer, die in Feldern häufig sein sollen. Vosseler teilt mit, daß Wühlratten den Sisalagaven unter Umständen dadurch schädlich werden können, daß sie die Außenrinde des Wurzelstocks abnagen und dessen zarte Kernteile fressen.

Wenn man Schädlinge bekämpfen will, muß man sie zunächst kennen. Darum bittet der Verfasser um Einsendung lebender oder mit eröffneter Bauchhöhle konservierter Exemplare nebst Proben der von den Nagern angerichteten Beschädigungen an das Biologisch-Landwirtschaftliche Institut Amani.

Matschie (Berlin).

Bolle, Die Bekämpfung der Ameisen- und Heuschreckenplage in Südamerika. (Der Tropenpflanzer. 1907. Heft 6.)

Verf. schildert kurz die mannigfaltigen, meist im wesentlichen ergebnislosen Versuche, die man gegen die Heuschrecken, wie auch besonders gegen die blattzerstörenden, sogen. Schlepperameisen in heißen Gegenden durchgeführt hat, und kommt dann auf ein neuartiges Bekämpfungsmittel, das seit einigen Jahren vornehmlich gegen die Schlepperameisen mit Erfolg angewendet wird. Es handelt sich nämlich um künstliche Ansiedlung einer fleischfressenden Raubameise, die weite Streifzüge nach ihrer Nahrung unternimmt, und dabei Insekteneier und Larven, Schlangen-, Eidechsen- und Schneckeneier, ganz besonders aber Brut von anderen Ameisen verzehrt. Besonders seit 1905 hat man in Brasilien in Rio de Janeiro, wie Minas Geraes und anderen Staaten versucht, diese Raubameise, die Zigeunerameise genannt wird, systematisch über große Felder zu verteilen, d. h. anzusiedeln, und das ist vollkommen gelungen, sobald man mit der nötigen Vorsicht zu Werke ging. Zuckerrohrfelder hat man hierbei allerdings zu vermeiden, da die Zigeunerameisen Liebhaber des Zuckerrohrsaftes sind. Sonst aber scheint die Zigeunerameise ein vorzügliches Kampfmittel gegen landwirtschaftliche Schädlinge aus der Insektenwelt der heißen Gegenden, wie auch gegen Schlangen zu sein.

Ehrenberg (Breslau).

Hiltner, Ueber die Bekämpfung von Ratten und Mollmäusen. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 6.)

Verf. empfiehlt auf Grund von näher mitgeteilten Versuchen gegen Ratten wie Mollmäuse das von Kopenhagen aus eingeführte „Ratin", dessen hoher Preis allerdings leider der allgemeinen Anwendung des bakteriellen Infektionsmittels hinderlich ist. Auch des erfolgreichen Vernichtungsverfahrens durch mit Strychninbutter vergiftete gelbe Rüben wird gedacht, und auch erwähnt, daß Versuche mit Baryumkarbonat bei Mollmäusen durchaus zu Erfolgen führten. Ehrenberg (Breslau).

Korff, Einiges über Wildverbiß an Holzgewächsen. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 1.)

Verf. bespricht zunächst die verschiedenen in Frage kommenden Arten der Pflanzenbeschädigung durch Wild, wendet sich dann davon dem „Verbiß" insbesondere zu, und kennzeichnet das durch denselben bei häufiger Wiederholung eintretende mehr oder weniger besenartige Aussehen der Gewächse. Auch Abwehrmittel werden kurz berührt.

Ehrenberg (Breslau).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Cromer, Fr. und **Seligmann, E.,** Ueber Ameisensäure enthaltende Konservierungsmittel. (Zeitschr. für Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 387.)

Neuerdings sind ameisensäurehaltige Konservierungsmittel für Frucht- und Obstsäfte, Marmelade, Früchte, Fleisch, Brot u. s. w. empfohlen worden. Es sind dies die Präparate Werderol und Fructol, welche im Verhältnis von 1:100 und Alacet, welches zu 0,3:100 zugesetzt werden soll. Die Untersuchungen von Cromer und Seligmann ergaben, daß Werderol und Fructol ca. 14, Alacet ca. 50 Proz. Ameisensäure enthalten.

Der Nachweis geringer Mengen von Ameisensäure in Fruchtsäften gelang den Verff. mittelst eines von ihnen modifizierten Verfahrens, welches auf Reduktion des Quecksilberchlorids zu Calomel durch das Destillat einer ameisensäurehaltigen Flüssigkeit beruht.

Versuche über die konservierenden Eigenschaften der Ameisensäure, angestellt an Bierwürzebouillon, welche einen Zusatz von Hefen, Schimmelpilzen und säurebildenden Bakterien aus Preßhefe erhalten hatte, ergaben, daß bei Zusatz von 0,15 Proz. freier Ameisensäure Gärung und Wachstum ausblieb. Bei geringerem Gehalt kam es stets zu Hefen- und Bakterienwachstum. Vernichtung der Bakterien erfolgt erst nach 24-stündiger Einwirkung von 0,2-proz. Ameisensäure.

Toxikologische Versuche mit Ameisensäure ergaben: Einmalige Einverleibung bestimmter Dosen Ameisensäure ruft bei Hund und Kaninchen vorübergehende Methämoglobinbildung hervor. Dauernde Darreichung sehr geringer Dosen übt kumulative Wirkung aus und führt gleichfalls zu Methämoglobinbildung. Bei Kaninchen sind die hierzu nötigen Dosen sehr gering, beim Hunde absolut und relativ (zum Körpergewicht) etwas höher; wie sie sich beim Menschen stellen werden, ist aus dem vorliegenden Material nicht ohne weiteres zu erschließen.

Schill (Dresden).

Biffi e **Razzeto**, Sulle applicazioni della filtrazione in microbiologia e sulla permeabilità di alcuni filtri ai protozoi delle acque. (Lo Sperimentale. 1907. Fasc. 1/2. p. 45.)

Aus zahlreichen von den Autoren vergenommenen Untersuchungen geht hervor, daß die sogenannten mikrobischen Filter dem Durchdringen der Mikroben nur innerhalb einer begrenzten Zeit, d. h. meist nicht mehr als wenige Tage lang, absoluten Halt zu bieten vermögen. Die Verhältnisse, unter denen der Durchgang der Keime stattfindet, werden dann durch vielerlei Faktoren und hauptsächlich durch die Qualität des Filters, die Natur der Keime, die Qualität der Suspensionsflüssigkeit, die Temperatur und die Dauer der Filtrierung beeinflußt. — Alle diese Faktoren können beim Experiment zu bedeutenden Urteilsfehlern führen, besonders da, wo es sich darum handelt, unsichtbare Viri zu studieren. In diesem Falle ist es stets ratsam, die physikalische Probe des Filters zu vervollständigen und dabei der möglichen Fehlerquellen Rechnung zu tragen, sowie sich der biologischen Probe zu bedienen, wobei der Filter nicht nur mit dem zu studierenden Keim, sondern auch mit anderen geprüft wird, deren Eigentümlichkeiten und Verhalten allgemein bekannt sind.

Verff. haben dann außerdem das Verhalten der Wasserprotozoen den sogenannten amikrobischen Filtern gegenüber studiert und konnten auf Grund einer langen Reihe von Versuchen feststellen, daß fast alle diese Filter für einige der Protozoen durchlässig sind. Immerhin ist aber die Durchlässigkeit der Filter für die Protozoen geringer als für die Mikroben. Die bekanntermaßen permeabelsten Filter wurden von den größten Protozoen und die nicht so permeabelen von den kleineren Protozoen durchzogen. Die Amöben dagegen passierten durch alle Filterarten, einige derselben erwiesen sich sogar nur für die Amöben durchlässig, wenngleich gleichzeitig auch entsprechende Versuche mit Flagellata geringerer Größe vorgenommen worden waren.

Verff. sind nun der Ansicht, daß die Erklärung dieser Tatsache in der Eigentümlichkeit gesucht werden könne, die diese Protozoen besitzen, sich nämlich in ihrer Form verändern und so bald länglich, bald dünn erscheinen können, je nachdem es die Dimension und die Form der Filtrierkanälchen erheischt.

Auf Grund der eigenen Resultate und Erfahrungen behaupten dann Verff., daß man mit Hilfe der Wasserprotozoen eine sehr einfache und ziemlich wertvolle biologische Probe anstellen könne zur Prüfung der Integrität eines neuen Filters und zur Feststellung des Durchlässigkeitsgrads, und dies besonders da, wo es sich um große Filter handelt, die nur schwer eine erste vollständige Sterilisation zulassen, welche jedoch, wenn nicht notwendig, so doch zweckmäßig ist, wo man mit Bakterien experimentieren soll. Da jedoch alle Materialien in trockenem Zustande frei von entwickelungsfähigen Protozoen sind, so ist zur Vornahme solcher Proben keine neue Sterilisation erforderlich.

Ceradini (Mailand).

Walbaum, Herm., Die Gesundheitsschädlichkeit der schwefligen Säure und ihrer Verbindungen, unter besonderer Berücksichtigung der freien schwefligen Säure. (Arch. f. Hyg. Bd. LVII. p. 87.)

Die Arbeit ist im pharmakologischen Institut der Universität Göttingen entstanden.

Wässerige SO_2-Lösung mit einem Gehalt von 0,1 Proz. SO_2 ist noch imstande, der Darmschleimhaut von Versuchstieren ihr transparentes Aussehen zu nehmen und sie opak zu machen. Bei ganz schwachen Lösungen ist schon eine sehr geringe Gesamtmenge von SO_2 (10—40 mg) krankmachend. Beim Menschen wirken 10 mg in 0,04-proz. wässeriger Lösung sicher krankheiterregend.

Die SO_2-Salze sind alle zentral lähmende Gifte. Allerdings ist in den mit Konservierungsmitteln versehenen Nahrungsmitteln eine quantitativ zur Entfaltung dieser Giftwirkung ausreichende Menge von SO_2-Salzen deshalb nicht wirksam, weil einmal ihre Resorption vom Magendarmkanal aus nur langsam stattfindet, und weil zweitens die geringen resorbierten und im Blute kreisenden Mengen von SO_2 rasch oxydiert werden. Dagegen müssen die Salze ebenso beurteilt werden, wie die freien SO_2, weil die freie Salzsäure des Magens das Gas aus seinen Verbindungen freizumachen vermag.

Die organischen SO_2-Salze können — wenn auch nur teilweise — ihre gebundene SO_2 abspalten. In Betracht kommen speziell beim Wein die Acetaldehyd-SO_2 und als Konservierungsmittel für Früchte die Glukose-SO_2.

Verf. verlangt, daß Früchte nicht mehr als 10 mg Proz. SO_2 enthalten dürfen. Die acetaldehyd-schweflige Säure gibt, mit 0,3 Proz. Salzsäure behandelt, nur 15 Proz. der SO_2 frei; deshalb ist sie weniger gefährlich, als die anderen SO_2-Verbindungen. Vor dem mehrfachen Schwefeln des Weins warnt W. Hirschbruch (Metz).

Lang, Hans und **Lang, Wilhelm**, Das Beizen von Getreide-Elitekörnern. (Deutsche landw. Presse 1907. No. 20.)

Die Verff. verstehen unter Elitesaatgut Körner von solchen Pflanzen, die im Zuchtgarten des betreffenden Züchters als Nachkommen von Eliten erwachsen sind. Derartige Saaten sind im allgemeinen schon durch die Art ihrer Gewinnung vor einer Infektion mit Brandsporen geschützt. Wenn trotzdem bei der Nachkommenschaft solcher Elitekörner Brandkrankheiten auftreten, so kann dies, wenn wirklich alle Vorbedingungen erfüllt sind, nur an zwei Ursachen liegen.

1) Es kann Blüteninfektion eintreten, wenn Sporenstaub von Flugbrand vom Winde unerwartet weit herbeigeführt worden war und daher die Elitekörner den Keim der Krankheit in sich tragen.

2) Es kann eine Infektion der Keimlinge durch im Boden vorhandene (bei Frühjahrssaat überwinterte) Brandsporen stattfinden.

Es frägt sich also: Soll auch das Elitesaatgut gebeizt werden, und wie ist dabei zu verfahren. Die Verff. sind der Ansicht, daß von einer Beizung abgesehen werden kann, wenn wirklich die für die Erzielung von Elitekörnern zu erfüllenden Bedingungen eingehalten worden sind. Sollte eine Blüteninfektion eingetreten sein, dann wird diese durch nachträgliches Beizen wahrscheinlich nicht unschädlich gemacht werden, und auch die Gefahr der Keimlingsinfektion durch im Boden vorhandene Brandsporen wird durch die Beizung sicherlich nicht vollkommen vermieden.

Besteht allerdings der Verdacht, daß die Vorbedingungen nicht vollständig erfüllt sind, dann sollte das Beizen nicht unterlassen werden. Als geeignetstes Verfahren empfielt sich die Heißwasserbehandlung. Es sind zu halten: Weizen und Hafer 5—10 Minuten bei 54—57° C., Gerste 5 Minuten bei 52—54° C. Vogel (Bromberg).

Achtundzwanzigste Denkschrift, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1905 und 1906, soweit bis zum 1. Nov. 1906 Material dazu vorgelegen hat. Bearbeitet in der kaiserl. biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. 268 p. Mit 5 Tafeln und 1 Kartenskizze. Berlin 1907.

Organisation der Reblausbekämpfung. Gemäß des Gesetzes vom 6. Juli 1904 sind die am Weinbau beteiligten Gebiete des Reiches in 141 Weinbaubezirke eingeteilt worden, wovon auf Preußen 45, Bayern 10, Königreich Sachsen 2, Württemberg 3, Baden 6, Hessen 19, Großherzogtum Sachsen 1, Sachsen-Meiningen 1, Elsaß-Lothringen 64 entfallen. Die den Bundesregierungen bis zum Schlusse 1904 erwachsenen Kosten beliefen sich auf 14088178, bis zum Schlusse 1905 kamen dazu 1361297 M. Seitens des Reiches sind außerdem seit 1879/80 bis Ende 1905 64272 M. aufgewendet worden. — Es folgen sodann die Bestimmungen, Verordnungen und Anweisungen, die in Ausführung des Reichsgesetzes betreffend die Bekämpfung der Reblaus vom 6. Juli 1904 erlassen bezw. aufgehoben worden sind.

Stand der Reblauskrankheit im Reiche.

Uebersicht über die im Jahre 1905 aufgefundenen Reblausherde.

	Anzahl der Herde	Zahl der kranken Stöcke	Zahl der gesunden Stöcke	Größe der vernichteten Herde
Preußen: Rheinprovinz	31	1 665	142 691	116 626
„ Hessen-Nassau	8	74	17 113	14 302
Bayern	9	4 749	141 064	229 420
Königreich Sachsen	127	7 436	3 838	6 594
Württemberg	51	17 541	163 474	219 258
Hessen	1	175	—	37 755
Elsaß-Lothringen	178	11 998	145 311	144 695
Im Ganzen	405	43 638	613 491	768 650

Beobachtungen und Versuche betreffend das biologische Verhalten der Reblaus. Exemplare der überwinternden Form waren neben den aus dieser hervorgegangenen weiter entwickelten Formen bis Ende Mai 1906 gefunden. Die der Winterform entstammenden Läuse begannen erst gegen Mitte Mai Eier zu legen. Dementsprechend konnte das Auftreten der ersten Reblausgeneration des Jahres erst Ende Mai in größerer Zahl beobachtet werden.

Im Herbste 1906 (27. Aug. bis 1. Okt. 1906) fanden sich in einem Weinberg bei Metz — abgesehen von der Winterform — alle unterirdisch lebenden Entwickelungsformen der Reblaus vor, insbesondere wurden auch viele Nymphen beobachtet. Oberirdisch lebende Formen konnten an Rebenblättern nicht gefunden werden, ebensowenig Wintereier. In Spinngeweben und an ausgelegten Fangpapieren wurden insgesamt 32 geflügelte Phylloxeren im Weinberg gefangen; von diesen erwiesen sich jedoch nur 26 als Phylloxera vastratrix Pl. Die übrigen 6 waren Eichenläuse, Phylloxera coccinea Heyd. Neben den biologischen Beobachtungen wurde im Frühjahr 1906 auch eine Anzahl von Versuchen über die Wirkung verschiedener Desinfektionsmittel ausgeführt.

Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1) Spanien. 1905 trat die Reblaus in den Provinzen Pontevedra und Santander auf, von denen erstere für verseucht erklärt wurde.

2) Schweiz. Im Kanton Bern wurde in Neuenstadt der erste Reblausherd entdeckt in der Nähe eines Herdes der neuenburgischen Gemeinde Landeron, im Kanton Aargau bei Remigen.

Im Kanton Tessin wurden 1904 401 ha Weinbergsfläche (443802 Reben) untersucht, dabei fanden sich 229 verseuchte Reben in 8 Gemeinden. In den Rebschulen von Casvegno und Mattoro wurden 119460 Veredlungen ausgeführt (59700 mit Erfolg). Im Kanton Neuenburg wurde die Phylloxera vastatrix 1877 zum ersten Male in den Gemeinden Boudry, Colombier und Neuchâtel gefunden. Der Kampf wurde 27 Jahre durchgeführt, hat aber zur Vernichtung der Reblaus nicht geführt, nur hat sich die Ausbreitung des Uebels verlangsamt. Von den 1200 ha in der Gemeinde Neuchâtel (die ein Kapital von 12000000 frcs. repräsentieren) sind etwa 150 ha zerstört und gegenwärtig mit Hilfe amerikanischer Reben wiederhergestellt worden.

1904 wurden 164882 qm Weinberg vernichet, die Kosten betrugen 85402,81 frcs.

Im Kanton Genf wurden 1904 von 530 Besitzern 46,3703 ha Weinbaufläche mit auf amerikanische Reben veredelten Reben wiederhergestellt.

3) Oesterreich-Ungarn. In Oesterreich wurde die Reblaus 1905 in 21 politischen Bezirken mit 57 Ortsgemeinden in Niederösterreich, Mähren, Krain, Küstenland, Dalmatien, Steiermark mit zusammen 948 ha 77 a Weingartenfläche amtlich festgestellt.

4) In Italien wurde die Reblaus 1904 ermittelt in Venetien, der Lombardei, in Piemont, Ligurien, der Emilia, Toscana, den Abruzzen, Apulien, Kalabrien. Verseucht waren 37,4419 ha, davon wurden dem Vernichtungsverfahren unterworfen 17,6755 ha. Der Kampf wurde aufgegeben auf einer Fläche von 117,3058 ha. Zum ersten Male wurde die Reblaus auf 51 Herden gefunden. Es wurden 1905 7774768 Schnittreben und 1439867 Wurzelreben von amerikanischen Rebsorten und 35645 veredelte Reben verteilt. Für Untersuchungen u. s. w. wurden 527680 Lire ausgegeben, für Vernichtung 374985 Lire.

Von den 69 Provinzen des Königreichs waren Ende 1905 41 von der Reblaus befallen in 1259 verseuchten Gemeinden und auf 53,6435 ha. Die Vernichtungsarbeiten erstreckten sich auf 24,2537 ha. In der Provinz Cagliari wurden allein 95,66 Zentner Schwefelkohlenstoff verwendet. In Süditalien und Sizilien waren Ende 1905 von 1718 weinbautreibenden Gemeinden 543 verseucht. Die Kosten beliefen sich 1904/05 auf 862377 Lire.

5) Rußland. 1906 wurde im Hinblick auf die starke Verbreitung der Phylloxera im Gouvernement Bessarabien die Einfuhr amerikanischer und europäischer Reben gestattet, die Ausfuhr von Rebensetzlingen verboten. In Podolien, wo sich die Reblaus 1897/98 nur an zwei Punkten fand, hat sie sich über das ganze Ufergebiet des Dnjesters in den Kreisen Olgopol und Balta ausgebreitet.

6) In Rumänien und in der Türkei hat die Reblausseuche gleichfalls bedeutend zugenommen.

7) In Afrika zeigte sich die Reblaus in der Regentschaft Tunis auf 4 ha.

8) Australien. Auch 1905 sind in Viktoria und Neu-Süd-Wales keine bedeutenden Schäden durch Reblaus entstanden.

Anhang: Auftreten und Bekämpfung von anderen Rebenkrankheiten im Jahre 1905.

I. Schädigung der Reben durch Witterungseinflüsse.

II. Schädlinge tierischer Natur.

Der Heu- oder Sauerwurm, Tortrix (Conchylis) ambiguella Hb. war 1905 in der Rheinprovinz allgemein verbreitet, aber er trat schwächer als früher auf. Die Bekämpfung der Winterpuppen war eines der besten Mittel gegen das Insekt, wie auch die Zerdrückung der Räupchen. Von Wurmgiften kamen mit Erfolg Horstyl nnd Markasol, ohne vollen Erfolg Harzölseife zur Verwendung. Auch die Versuche, die Motten durch Geruchsmittel wie Tresterwein, Petroleum, Nelkenöl, Anisöl, Essig u. s. w. fernzuhalten, waren nur teilweise von Erfolg. Ebenso hatte der Mottenfang durch Klebfächer und Fanglampen nur ein sehr geringes Ergebnis. In der Provinz Hessen-Nassau wurde der Heuwurm 1905 fast überall beobachtet, verursachte aber nur geringen Schaden. Der bekreuzte Traubenwickler, Grapholitha botrana, der kleiner als der Heuwurm ist und sich vom Frühjahr bis zum Herbst beständig vermehrt, trat im Rüdesheimer Berg besonders bedenklich auf. In der Bayrischen Pfalz war die Verbreitung des einbindigen wie des bekreuzten Tortrix so allgemein, daß er erheblichen Schaden verursachte. Der Mottenfang durch Klebfächer hatte Erfolg.

Der Springwurmwickler, Tortrix pilleriana, Pyralis vitana, wurde besonders in der Rheinprovinz, in Hessen-Nassau, der Bayrischen Pfalz, in Baden beobachtet. Zerdrücken der Wickel am Stock, Abreißen und Verbrennen derselben erwiesen sich als wirksam. Stellenweise beunruhigend war das Auftreten des Rebenstechers, Rhynchites betuleti, des Dickmaulrüßlers, Otiorhynchus sulcatus. Der Weinstockfallkäfer, Adoxus vitis, der Julikäfer, Anomola aenea, und die Weinstockzikade, Typhlocyba vitis, die große Rebenschildlaus, Pulvinaria vitis, die Weinblattmilbe, Phytoptus vitis, richteten nur geringen Schaden an, ebenso das Wurzelälchen, Anguillula radicicola, während Weinbergsschnecken, von Vögeln, namentlich die Amsel, Eichhörnchen, Mäuse und Wild mehrfach zu Klagen Anlaß gaben.

III. Schädlinge pflanzlicher Natur.

Von ihnen kamen namentlich in Betracht: Die Blattfallkrankheit, Plasmopara viticola, der Aescherig, Oidium Tuckeri, Wurzelfäule, Dematophora necatrix, Rußtau und Traubenfäule.

IV. Von Rebenkrankheiten, deren Ursachen unbekannt oder in ungünstigen Boden- und Witterungsverhältnissen zu suchen sind, fanden sich Chlorose, Grind, Hitzbrand, Blattrausche (Lohe) und Melanose.

Ludwig (Greiz).

Strunk, Die chemischen Mittel zur Bekämpfung der Rindenwanze des Kakaobaumes in Kamerun. (Tropenpflanzer. 1906. Heft 11.)

Verf. weist darauf hin, daß der so äußerst gefährliche Schädling der Kameruner Kakaokultur, die Rindenwanze, bisher nur mit wenig Erfolg bekämpft werden kann, und teilt die Erfolge mit, welche er bei Untersuchung verschiedener, für Insektentötung in Betracht kommender

Lösungen erreichen konnte. Während Essigsäure, Lysol, Soda und Schwefelleber keine genügenden Erfolge zeigten, Lysol selbst nicht in 3-proz. Lösung, enttäuschte ebenso Kreolin. Sicher in ihrer Wirkung wenn auch langsam, waren $2^1/_2$-proz. Quassialösung, und arsenigsaures Natron, wie Schweinfurter Grün. Icid, ein neueres Desinfektionspräparat, brachte erst in 10-proz. Anwendung eine schwache Wirkung hervor.

Während somit die vorbesprochenen Mittel Empfehlung nicht verdienen, zeigte sich sowohl 1—3-proz. Tabaksabkochung wie vor allem schon $^1/_2$-proz. gewöhnliche Schmierseifenlösung als äußerst wirksam. Verf. empfiehlt daher 1-proz. Seifenlösung, und zwar, wenn es die Sicherung der Gesundheit der verwendeten Arbeiter erlaubt, mit einem Zusatz von arsensaurem Natron oder Schweinfurter Grün im Verhältnis 1:1000, da die Arsenpräparate länger auf den Bäumen wirksam bleiben, als die anderen Mittel. Das Schweinfurter Grün bietet auch den Vorteil einer besseren Kontrolle der Arbeit, da Kalkzusatz natürlich zu diesem Zweck bei Seife ausgeschlossen ist. Sonst ist, namentlich für Eingeborenenkulturen, Tabakbrühe sehr zu empfehlen, da der Pflanzer sich die nötigen Tabakstauden am Rande seines Feldes selbst ziehen kann, so daß Kosten außer dem Spritzgerät nicht entstehen. Das Durchspritzen der Pflanzungen ist im Anschluß an die Regenzeit vorzunehmen.

Ehrenberg (Breslau).

Räbiger, Zur Bekämpfung der Feldmäuse. (Mitt. d. deutsch. Landwirtsch.-Gesellsch. 1906. Stück 44.)

Verf. empfiehlt die Anwendung der Lößlerschen Mäusetyphusbacillen zur Bekämpfung der Feldmäuse. Ueberall, wo genügend virulente Kulturen dieser Bacillen in richtiger Weise verwendet wurden, war der Erfolg ein befriedigender. Von den vielen anderen zur Vernichtung der Feldmäuse empfohlenen Mitteln hat sich eigentlich nur der Schwefelkohlenstoff bewährt, der aber wegen seines hohen Preises, seiner Feuergefährlichkeit und seiner Unfähigkeit als Vorbeugungsmittel zu wirken, doch erheblich hinter dem Mäusetyphusbacillus zurücksteht.

In einer Nachschrift gibt Löffler selbst eine genaue Anweisung, wie die Kulturen des Bac. typhi murium unter den Verhältnissen der Praxis zu verwenden sind. Vogel (Bromberg).

Hiltner, Ueber das Auftreten der Feldmäuse und deren Bekämpfung. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 5.)

Verf. berichtet kurz über das starke Auftreten der Feldmäuse in Bayern im Frühjahr 1907, und über die dagegen angewandten Vorkehrungen, als welche Verwendung von Lößlerschem Mäusebacillus, Baryumkarbonat und Strychnin besonders in Benutzung kamen.

Ehrenberg (Breslau).

Schmiedt, Ph., Die chemische Zusammensetzung des Bergerschen und Holzschen Weinbergschutzmittels. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1904. p. 200—202.)

In dem Bergerschen und Holzschen Weinbergschutzmittel wurden Universalmittel gegen die Hauptfeinde des Weinstockes gepriesen, weshalb sich zur Begründung deren Anwendbarkeit allererst eine chemische Analyse als notwendig erwies, welche folgende Resultate lieferte:

	Bergersches Mittel %	Holzsches Mittel %
Schwefel (in Schwefelkohlenstoff löslich)	15,11	20,25
Kupfersulfat (kristallisiert)	11,64	11,51
Bleichendes, wirksames Chlor (aus dem Chlorkalk)	4,35	3,28
Gebrannter Kalk (reiner Kalk, Calciumoxyd)	51,30	44,33
Sand	3,72	2,81
Tonerde und Eisenoxyd	3,87	3,11
Magnesia	3,16	2,77
Kohlensaurer Kalk	4,84	5,37
Chlorcalcium (aus dem Chlorkalk)	3,58	4,29
Naphthalin	—	0,95
Summa	101,57	98,67

Als wirksame Bestandteile können nur Schwefel, Kupfervitriol, Chlorkalk und gebrannter Kalk, beim Holzschen Mittel außerdem noch Naphthalin gelten. Nachdem Schwefel und Kupfersulfat bei der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms nicht in Betracht kommen, gegen Peronospora und Oidium jedoch von jeher schon gedient haben und bei bisheriger Anwendung desselben deren Reinheit und Feinheit auch besser geprüft werden kann, ist es weitaus besser, in üblicher Weise zu schwefeln und zu spritzen. Der Zusatz von Chlorkalk könnte der Rebe eher nachteilig sein, als dem Schädling selbst, während Naphthalin sich zu früh verflüchtigt, als daß es eine entsprechende Wirkung ausüben könnte. Die Versuchsresultate zeigen keine Spur von Erfolg.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Abel, Rud., Bakteriologisches Taschenbuch, enth. die wichtigsten technischen Vorschriften zur bakteriologischen Laboratoriumsarbeit. 11. Aufl. Würzburg (Stuber) 1907. VI, 120 p. 8⁰. 2 M.

v. Esmarch, E., Das bakteriologische Untersuchungsamt, seine Aufgabe und Organisation. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege. Bd. XXXIX. 1907. Heft 3. p. 519—533.)

Gordan, P., Ueber die Tätigkeit des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer zu Danzig. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. XII. 1907. N. 35. p. 237—238.)

Hiltner, L., Bericht über die Tätigkeit der kgl. Agrikultur-botanischen Anstalt in München im Jahre 1906. München 1907. (3. Beilage z. Vierteljahrsschr. d. Bayer. Landwirtschaftsrates. Jg. XII. 1907. Ergänzungsheft zu Heft 2. p. 295—490.)

Jatschewsky, A., Die Krankheiten der Pflanzen (Phytopathologie). St. Petersburg. 1907. 8⁰. M. Fig. Lief. 3. (Russisch.) Lief. 1,50 M.

Krüger, W., Zweck und Einrichtung des Versuchsfeldes für bakteriologische Untersuchungen. (Landw. Jahrb. Bd. XXXVI. 1907. Heft 3. p. 371—382.)

Lehmann, K. B. und **Neumann, R. O.**, Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 4. umgearb. u. verm. Aufl. 2 Teile. München (Lehmann) 1907. XIII p., 70 farb. Taf. u. XIV u. 730 p. 8⁰ = Lehmanns med. Handatlanten. Bd. X. 18 M.

Ray, Julien, Sur la passage du saprophytisme au parasitisme. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. Notes et mém. p. 445—447.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Guieysse, A., Platine oscillante de Nachet pour la mikrophotographie stéréoscopique. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 24. p. 18—19.)

v. d. Hellen, Schutz der Instrumente gegen Rost. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. XI. 1907. Heft 16. p. 536.)

Hinterberger, Alexander, Wie kann man absolut reine und beschickte Deckgläser transportieren? (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 2. p. 145—147. 2 Fig.)

Kolkwitz, R., Entnahme- und Beobachtungsinstrumente für biologische Wasseruntersuchungen. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1907. Heft 9. p. 111—144. 22 Fig.)

Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 13/15. p. 385—394. 6 Fig.)

Küster, Ernst, Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Für den Gebrauch in zool., bot., med. u. landw. Laboratorien. Leipzig (Teubner) 1907. VI, 201 p. 8°. 7 M.

Mayer, Paul, Ueber die Einbettung kleiner Objekte zum Schneiden. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 2. p. 128—132.)

Molisch, Hans, Ueber Sichtbarmachung der Bewegung mikroskopisch kleinster Teilchen für das freie Auge. Wien (Hölder). 7 S. 8°. (Sitzungsber. d. k. Akad. Wien 1907.) —,30 M.

Pfuhl, E., Die Züchtung anaërober Bakterien in Leberbouillon, sowie in Zuckerbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit einem Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 4. p. 378—383.)

Reichert, Karl, Beobachtung der Geißeln von Bakterien im ungefärbten Zustande mit Hilfe des Spiegelkondensors. [Vorl. Mitt.] (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 18. p. 1121—1125.)

Richter, Oswald, Die Bedeutung der Reinkultur. Eine Literaturstudie. Berlin (Bornträger) 1907. VIII, 128 p. 3 Fig. 4,40 M.

Siedentopf, H., Paraboloid-Kondensor, eine neue Methode für Dunkelfeldbeleuchtung zur Sichtbarmachung und zur Moment-Mikrophotographie lebender Bakterien etc. (insbesondere auch für Spirochaete pallida). (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 2. p. 104—108. 1 Fig.)

Sommer, E., Quarzlampe, Finsen-Reynlampe, Uviollampe. Uebersichtsref. (Med. Klinik. Jg. III. 1907. N. 38. p. 1150—1151.)

Spiegel, L., Zur Kenntnis der Weigertschen Elastinfarbstoffe. (Virchows Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXXIX. (Folge XVIII. Bd. IX.) Heft 1. p. 17—21.)

Trommsdorff, Richard, Die Milchleukocytenprobe. (Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. 22. 1906, ersch. 1907. p. 49—55.)

Wrzosek, Adam, Weitere Untersuchungen über die Züchtung von obligatorischen Anaëroben in aërober Weise. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV 1907. Heft 6. p. 607—617.)

Z., Neuer Pasteurisierapparat mit geradem Röhrensystem. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 35. p. 347. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Andres, Angelo, Di alcuni microorganismi, probabilmente nuovi, esistenti nel fango termale di Bormio. (Atti Congr. Natural. Ital. Milano 1906. ersch. 1907. p. 419—426. 6 Fig.)

Bordas, L., Morphologie de l'appareil digestif de l'anthonome du pommier (Larve et adulte). (Bull. de la Soc. Zool. de France. T. XXXI. 1907. N. 5. p. 121—123.)

Choladkovsky, N., Die Coniferen-Läuse Chermes, Feinde der Nadelhölzer. Berlin (Friedländer u. Sohn) 1907. III, 44 p. 8°. 6 Taf. 3 M.

Fungi imperfecti: Hyphomycetes (erste Hälfte), Mucedinaceae, Dematiaceae (Phaeosporae u. Phaeodidymae), bearb. von Prof. Dr. Gustav Lindau. Mit zahlr. Abb. Leipzig (E. Kummer) 1907. VI, 852 p. 8°. = Rabenhorst, L., Kryptogamen-Flora. 2. Aufl. Bd. I. Pilze. Abt. VIII.

Harz, C. O., Einige neue Schimmelpilze. (Sitzber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. 22. 1906, ersch. 1907. p. 29—36.)

Hollós, L., Zwei interessante Schmarotzerpilze aus Kecskemét. (Mag. bot. Lapok. 6. 1907. p. 187. [Ungarisch].)

Holway, E. W. D., North American Uredineae. (Vol. I. P. 3. Minneapolis, Minn. 1907. p. 57—80. 12 Taf.)

v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie III. N. 92—155. Wien (Hölder) 1907. 80 p. 1 Taf. 8°. 2,30 M.

Huss, Harald, Zur Charakteristik einer neuen, aus sterilisierter Dosenmilch isolierten

Bakterie „Plectridium novum". [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 13/15. p. 420—425. 1 Taf.)

Klebahn, H., Einige Beobachtungen über Nectria cinnabarina. (Gartenflora. Jg. LVI. 1907. Heft 19. p. 508—514. 4 Fig.)

Lutz, L., Trois Champignons nouveaux de l'Afrique occidentale. (Bull. de la Soc. bot. France. T. LIII. 1906. ersch. 1907. p. 48—52. 2 Fig.)

Maire, R., Contributions à l'étude de la flore mycologique de l'Afrique du Nord. (Bull. de la Soc. bot. de France. T. LIII. 1906, ersch. 1907. p. 180—215. 3 Fig.)

Molisch, Hans, Ueber Purpurbakterien. (Verh. Ges. Deutsch. Naturf. u. Aerzte. 78. Vers. Stuttgart 1906. Teil II. Hälfte 1. p. 282—284.)

Reiche, K., Bau und Leben der hemiparasitischen Phrygilanthus-Arten Chiles. (Flora. Bd. XCVII. Jg. 1907. Heft 4. p. 375—401. 2 Taf.)

Ringenbach, J. E., Contribution à l'étude des Microbes saprophytes des eaux. Bordeaux 1907. 55 p. 8°. 3 Taf.

Scott, Hugh, On Cercococcus eremobius gen. et sp. nov., an aberrant form of Coccidae. (Trans. of the Linnean Soc. of London. Zool. Vol. IX. P. 12. p. 455—464. 1 Taf.)

Senft, Em., Ueber eigentümliche Gebilde in dem Thallus der Flechte Physma dalmaticum A. Zahlbr. Wien (Holder) 1907. 10 p. 8°. 1 Taf. (Aus: Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien 1907.) —,55 M.

Stauffacher, Hch., Zur Kenntnis der Phylloxera vastatrix Pl. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXVIII. 1907. Heft 1. p. 131—152. 1 Taf. u. 5 Fig.)

Swellengrebel, Sur la cytologie Comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Fin.) (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 7. p. 562—586.)

Turconi, M., Un nuovo fungo parassita sulla Chaquirilla, pianta messicana. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. 1907. p. 91—94.)

Biologie.

Adams, J., Parasitic Fungi. (Irish Naturalist. T. XVI. 1907. p. 167—169.)

Buchner, Eduard und **Hoffmann, Robert**, Einige Versuche mit Hefepreßsaft. (Biochem. (Ztschr. Bd. IV. 1907. Heft 2/3. p. 215—234.)

Dangeard, P. A., Recherches sur le développement du périthèce chez les ascomycètes. (Botaniste. T. X. 1907. p. 1—385. 91 Taf.)

—, L'origine du périthèce chez les Ascomycètes. Poitiers 1907. 385 p. 91 Taf. u. 12 Fig. 32 M.

Duggar et **Pinoy**, Sur le parasitisme des Terfaz. (Bull. de la Soc. bot. de France. T. LIII. 1906, ersch. 1907. p. 72—74. 2 Fig.)

Farneti, R. e **Pollaci, G.**, Di un nuovo mezzo di diffusione della fillossera per opera di larve ibernanti in galle di speziale conformazione. (Atti istit. bot. Univ. Pavia 1907. p. 95—102. 1 Taf.)

Fuhrmann, E., Ueber Entwickelungszyklen von Bakterien. (Verh. Ges. Dtschr. Naturf. u. Aerzte. 78. Vers. Stuttgart 1906. Teil II. Hälfte 1. p. 278—279.)

Galimard, J., Quelques recherches nouvelles sur les cultures microbiennes en milieux chimiquement définis. Thèse de Lyon (méd.) 1907. 8°.

Grassberger, R. und **Schattenfroh**, Ueber Buttersäuregärung. IV. Abhandl. (Arch. f. Hyg. Bd. LX. 1907. Heft 1. p. 40—78. 2 Taf.)

Harrison, F. C. and **Barlow, B.**, The nodule organism of the Leguminosae — its isolation, cultivation, identification and commercial application. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 7/9. p. 264—272. 9 Taf.)

Huss, H., Aromabildende Bakterien. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXIV. 1907. N. 78. p. 617—618.)

Johnson, T., Some injurious fungi found in Ireland. (Econ. Proc. R. Dublin Soc. 1. 1907. p. 345—370. 4 Taf.)

Jourde, Ant., Action d'une Mucédinée, le Paecilomyces Varioti, sur les hydrates de carbone. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 27. p. 264—266. 1 Fig.)

Kolkwitz und **Ehrlich, Felix**, Chemisch-biologische Untersuchungen der Elbe und Saale. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1907. Heft 9. p. 1—110. 4 Taf. u. 14 Fig.)

Krüger, W. und **Heinze, B.**, Untersuchungen über das Wesen der Brache. (Landw. Jahrb. Bd. XXXVI. 1907. Heft 3. p. 383—423. 1 Taf.)

Kratz, C., Ueber die Beziehungen der Mycelien einiger saprophytischer Pyrenomyceten zu ihrem Substrat. Berlin 1906. 28 p. 8°. 8 Fig. 1,50 M.

Küster, E., Die Nützlichkeit niederer Pilze und Bakterien. (Blätt. f. Volksgesundheitspflege. Jg. VII. 1907. N. 9. p. 195—203.)

Kuntze, W., Weitere Bemerkungen zur Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 4. p. 299—309.)

Lange, H., Ueber den physiologischen Zustand der Hefe. (Forts.) (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 34. p. 445—449.)

Lange, H., Ueber den physiologischen Zustand der Hefe. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 38. p. 505—515.)

Laubert, R., Rostpilzevertilgende Mückenlarven. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXIV. 1907. N. 78. p. 618.)

de Loverdo, J., L'action des basses températures sur les oeufs et les chenilles du Paralipsa. gularis Zeller. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 1. p. 90—92.)

Kayser, E. et **Marchand, H.**, Influence des sels de manganèse sur les levures alcooliques. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 5. p. 343—345.)

Magerstein, Vinz. Th., Fermentative oder chemische Säuerung bei Hefebereitung in den Brennereien. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 32. p. 250—251; N. 33. p. 258—259.)

Maige, Un nouvel hôtel du Telenchus devastatrix. (Bull. de la Soc. bot. de France. T. LIII. 1906, ersch. 1907. p. 75—77. 5 Fig.)

Marchal, P., Importation aux États-Unis des parasites du Liparis (Porthesia) Chrysorrhoea. (Bull. de la Soc. zool. de France. T. XXXI. 1907. N. 5. p. 141—143.)

Marotel, Le role actuel des arthropodes en pathologie. (Ann. Soc. d'agric. sc. et industr. de Lyon 1906, ersch. 1907. p. 279—302. 12 Fig.)

Martelli, G., Contribuzioni alla biologia della Pieris brassicae L. e di alcuni suoi parassiti ed iperparassiti. Boll. Lab. Zool. Sc. sup. Agr. Portici. 1907. 55 p. 12 Fig. 3 M.

Molisch, Hans, Das Leuchten der Pflanzen. (Schriften d. Ver. z. Verbreitg. naturw. Kenntnisse in Wien. p. 125—152. Bd. XLVII. 1907. 5 Taf.)

Molz, E., Ueber die Lebensweise der schwarzen Kirschblattwespe. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. R. Wiesbaden. Jg. LXXXIX. 1907. N. 35. p. 214—215.)

Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse Aphididae Passerini. (Biol. Centralbl. Bd. XXVII. 1907. N. 17. p. 529—550; N. 18. p. 561—575.)

Müntz at **Lainé**, Recherches sur la nitrification intensive et l'établissement des nitrières à hauts rendements. (Ann. de l'inst. nat. agron. Sér. II. T. VI. 1907. Fasc. 1. p. 15—144.)

Neresheimer, Eugen, Der Zeugungskreis von Opalina. (Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München. 22. 1906, ersch. 1907. p. 24—28. 1 Fig.)

—, Die Fortpflanzung der Opalinen. (Arch. f. Protistenkunde. Suppl. 1. Textbd. f. Rich. Hertwig 25-j. Profess.-Jubil. p. 1—42. 3 Taf. u. 2 Fig.)

Péju, G. et **Rajat, H.**, Bactéries et matières colorantes. (Lyon médical. T. CVIII. 1907. N. 25. p. 1193—1195.)

— —, Modifications morphologiques et biologiques des bactéries dans les milieux salins. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. p. 879—884.)

Pinoy, Ernest, Rôle des bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 8. p. 622—656.)

Prior, Verwendung von Reinhefe in kleineren und mittleren Brauereien. (Allg. Ztschr. f. Bierbr.- u. Malzfabrikat. Jg. XXXV. 1907. N. 36. p. 391—392.)

Rajat, H. et **Péju, G.**, Relation entre la secheresse et le développement de certains insectes nuisibles à l'agriculture. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. 35. Sess. Lyon 1906. p. 1155—1157.)

— —, Quelques observations nouvelles sur le polymorphisme des bactéries. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. Notes et mém. p. 424—427. 2 Fig.)

Rocasalano, Gregorio, Accion del anhidrico sulfuroso sobre una raza del Saccharomyces eclipsoideus. (Anales de la Facultad de Ciencias de Zaragoza. Año I. 1907. N. 1.)

Rywosch, D. und **Marie**, Ueber die Katalase des H_2O_2 durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 4. p. 295—298.)

Simon, J., Bakterienimpfung bei Anbau von Hülsenfrüchten. (Sächs. landw. Ztschr. Jg. LV. 1907. N. 33. p. 877—881; N. 34. p. 991—905.)

Shear, C. L. and **Wood, Anna K.**, Ascogenous forms of Gloeosporium and Colletotrichum. (Bot. Gazette. Vol. XLIII. 1907. N. 4. p. 259—266.)

Tower, William Lawrence, An investigation of evolution in chrysomelid beetles of the genus Leptinotarsa. Washington, Carnegie Inst. 1906. X, 320 p. 8°. 30 Taf. = Carnegie Instit. Publication. N. 48.)

Vivarelli, L. e **de Renzio, P.**, Comportamento del Saccharomyces ellipsoideus in presenza del Penicillium glaucum. (Riv. Conegliano. Vol. IV, 1906. p. 398—400.)

Widal, Fernand, Sur un mémoire de Georges Rosenthal, Sur l'adaptation à la vie aérienne (aérobisation) des microbes anaérobies stricts. (Bull. de l'Acad. de méd. Sér. 3. T. LVIII. 1907. N. 31. p. 177—182.)

Wilfarth †, H. und **Wimmer, G.**, Ueber den Einfluß der Mineraldüngung auf die Stickstoffbindung durch niedere Organismen im Boden. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXVII. 1907. Heft 1/2. p. 27—50.)

Worthmann, F., Untersuchungen über die Eijkmansche Probe und ein eigenartiges,

Gärung erregendes Bakterium. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1907. Heft 9. p. 185—196.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Bordas, Glace naturelle et artificielle: Mesure applicable à la vente. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Ser. 4. T. VIII. 1907. p. 126—149. 2 Fig.)

Kisskalt, Karl, Beobachtungen an einer Wasserleitung. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 18. p. 1118—1121. 1 Fig.)

Korschun, S., Ueber die Bestimmung des Sauerstoffes im Wasser, nebst einigen Beobachtungen über Sauerstoffzehrung. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. 1907. Heft 4. p. 324—335.)

Nowack, K., Untersuchungen über die Zuverlässigkeit der Eijkmannschen Probe. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1907. Heft 9. p. 197—205.)

Riegel, Zitronensäure und Sonnenstrahlen als Desinfektionsmittel für Trinkwasser für militärische Zwecke. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. 1907. Heft 3. p. 217—231.)

Savage, William G., The bacteriological examination of surface wells. (Journ. of hyg. Vol. VII. 1907. N. 4. p. 477—500.)

Fleisch.

Borchmann, Ueber die Notwendigkeit der Ausdehnung der Untersuchung (Fleischbeschau) auf das Wildbret. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. XXXIII. 1907. Heft 6. p. 521—582.)

Martel, H., Conservation et maturation des viandes. Emploi du froid industriel. (L'hygiène de la viande et du lait. (Année I. 1907. N. 1; N. 2. p. 53—67.)

Mühlens, Fleischvergiftungsepidemie an Bord eines Kriegsschiffes. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. XI. 1907. N. 16. p. 533.)

Milch, Molkerei.

Bellier, Le lait à Lyon. (Compt. rend. Assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. p. 1382—1388.)

Bertrand, Gabriel und **Weisweiller, Gustav**, Einwirkung des bulgarischen Fermentes auf die Milch. (Liebigs Ann. d. Chemie. Bd. CCCLI. 1907. p. 486—503.)

Beyerinck, Over melkrunrgioting in melk. (Koninkl. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. Bd. XXVI. 1907. N. 4.)

de Jong, A. et **de Graaff, W. C.**, Recherches sur le lait. Le lait pasteurisé et la recherche du colibacille. (Tijdschr. voor Veeartsenijkunde. 1906. p. 152.)

Ebell, R., Ein Beispiel von Milchversorgung der Stadt mit einwandfreier Vollmilch in Flaschen, mit besonderer Berücksichtigung der technischen Verarbeitung der Milch und der Tiefkühlung mittels Kohlensäure-Kühlmaschine. (Dtsche Landw. Presse. Jg. XXXIV. 1907. N. 53. p. 439.)

Hempel, Die Behandlung der Milch. (Landw. Wchnschr. f. Pommern. Jg. X. 1907. N. 40. p. 317—319.)

Luerssen, Artur, Die Unbrauchbarkeit der Zitronensäure zur Desinfektion der Milch. (Dtsche med. Presse. Jg. XI. 1907. N. 18. p. 139—141.)

Morot, Ch., Le controle sanitaire de la production du lait destiné à l'alimentation humaine. (Compt. rend. assoc. franç. pour l'avanc. des sc. Lyon 1906. p. 1377—1381.)

Otto, Die Dresdner Kur- und Kindermilch aus: Wissenschaftl. Führer durch Dresden. (Den Teilnehmern d. 79. Vers. Dtscher Naturf. u. Aerzte. 1907. p. 154—161. 2 Fig.)

Petersen, Die Bewegung auf dem Gebiete der Milchhygiene vom geschäftlichen Standpunkte der Produzenten. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LVII. 1907. N. 27. p. 419—421.)

Proskauer, B., **Seligmann, E.** und **Croner, Fr.**, Ueber die Beschaffenheit der in Berlin eingeführten dänischen Milch. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVII. 1907. Heft 2. p. 173—247.)

Porchier, L'alimentation des grandes villes en lait. Approvisionnement de Copenhague, Berlin, Vienne, New York etc. (Ann. Soc. d'agric. sc. et industr. de Lyon 1906, ersch. 1907. p. 185—209.)

Rievel, H., Handbuch der Milchkunde. Hannover (Schaper) 1907. X, 376 p. 8⁰. M. Fig. 9,50 M.

Sommerfeld, Kurd, Ueber Säuglingsmilch, mit besonderer Berücksichtigung des Muck- und Römerschen Verfahrens. [Diss. med.] Gießen 1907. 8⁰.

Strelinger, Hermann, Perhydrasemilch nach Much und Römer. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVIII. 1907. Heft 1. p. 15—21.)

Strzyzowski, C., Ueber Yoghurt. (Therapeut. Monatshefte, Jg. XXI. 1907. Heft 10. p. 529—531.)

Wein, Weinbereitung.

Desmoulins, A. M., La sulfitage de la vendange. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 67. p. 266.)
Ergebnisse der amtlichen Weinstatistik 1905/1906. Teil 1: Weinstatistische Untersuchungen. Einleitung von Adolf Günther. Berichte der Untersuchungsanstalten, welche mit der Ausführung der weinstatistischen Untersuchungen betraut sind, gesammelt im kaiserl. Gesundheitsamte. — Teil 2: Moststatistische Untersuchungen. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im kaiserl. Gesundheitsamte. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXVII. 1907. Heft 1. p. 1—182.)
Haas, Bruno, Ueber das Trübwerden und den schwarzen Bruch der Weine. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 32. p. 251—252.)
Henneberg, W., Bakteriologische Untersuchung über Weinessiggärung. (D. dtsche Essigindustrie. Jg. XI. 1907. N. 32. p. 261—263; N. 33. p. 269—271.)
Langlade, M., L'acide sulfureus en vinification. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 66. p. 262.)
—, Préparation des vins bourrus. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 69. p. 273—274.)
—, Contre l'acétification des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 71. p. 282.)
L'évolution des méthodes de vinification. (Revue de viticult. Année XIV. 1907. N. 715. p. 233—236.)
Martinand, V., Sur l'origine des dépôts de la matière colorante des vins rouges. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 4. p. 258—259.)
—, L'acide sulfureus en vinification. (Rev. de viticulture. Année XIV. 1907. N. 713. p. 177—179.)
Meissner, Die Behandlung kranker und fehlerhafter Weine. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 8. p. 106—109: N. 9. p. 121—124.)
Mestrezat, W., Sur l'acide malique dans les moûts et les vins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 4. p. 260—261.)
Roos et **Mestrezat, W.**, Dosage sous pression réduite des acides volatils dans les vins, les monts, les bières. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 714. p. 291—205. 2 Fig.)
Sémichon, Lucien, L'évolution des méthodes de vinification. (Rev. de viticulture. Année XIV. 1907. N. 713. p. 173—176; N. 714. p. 206—208.)
Stemmler, L., Rotweinbereitung und Behandlung deutscher Rotweine. Köln (Verband dtschr. Genossensch.) 1907. 151 p. 8°. 89 Fig. 1,50 M.

Bier, Brauerei.

Fürnrohr, O., Desinfektion der Gärbottiche und Lagerfässer mittels des „Faßsterilisators Rapid". (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 33. p. 425—426.)
Fuhrmann, Franz, Zur Kenntnis der Bakterienflora des Flaschenbieres. 5. Bacillus flavus. 6. Bacillus cerevisiae. (Schluß.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 7/9. p. 221—236. 1 Taf. u. 1 Fig.)

Andere Nahrungsmittel.

Grassberger, R., Gesundheitstörungen durch verdorbene Nahrungsmittel. (Schriften d. Ver. z. Verbreitg. naturw. Kenntnisse in Wien. Bd. XLVII. 1907. p. 201—242.)
Lévy, E. et **Fornet, W.**, Sur l'importance des microbes et des produits microbiens dans les infections alimentaires. (L'hygiène de la viande et du lait. Année I. 1907. N. 5. 5 p.)

Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Auerbach, Friedrich und **Barschall, Hermann**, Studien über Formaldehyd II. Die festen Polymeren des Formaldehyd. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXVII. 1907. Heft 1. p. 183—230. 9 Fig.)
Ballner, Franz und **Reibmayr, Hans**, Beiträge zur Raumdesinfektion mittels Autan. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 16. p. 967—979.)
Büller, L. J., Over de antiseptische werking van Anios. (Geneesk. Tijdschr. voor Nederl.-Indie. Deel 47. 1907. Afl. 2/3. p. 241—244.)
Dunbar, Leitfaden für die Abwasserreinigungsfrage. München (Oldenbourg) 1907. XXIV, 386 p. 8°. 147 Fig. 9 M.
von Esmarch, Verwendung alter Aetzkalkpräparate zu Desinfektionszwecken. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 18. p. 1102—1112.)
Gernsheim, Fritz, Die Desinfektion eines ganzen Hauses mit Autan. (Med. Klinik. Jg. III. 1907. N. 36. p. 1079.)
Hammerschmidt, Die Gnesener Kläranlage. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LVII. 1907. Heft 3. p. 355—387.)

Hoffmann, W., Ueber einen neuen Formaldehyddesinfektionsapparat. (Med. Klinik. Jg. III. 1907. N. 38. p. 1136—1140. 2 Fig.)

—, Ueber die Verwendung nichtpathogenen Sporenmaterials zur Prüfung von Desinfektionsverfahren. (Dtsche militärärztl. Ztschr. Jg. XXXVI. 1907. Heft 16. p. 691—701.)

Huber und **Bickel**, Formaldehyd-Kalkverfahren zur Raumdesinfektion. (München. med. Wchnschr. Jg. LIV. 1907. N. 36. p. 1783.)

Kolle, W., Aphoristische Betrachtungen über einige praktisch und theoretisch wichtige Punkte der Desinfektionslehre. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXIII. 1907. N. 39. p. 1592—1597.)

—, Ueber Wohnungsdesinfektion, im besonderen über Formaldehydverfahren und Versuche mit Autan. Vortrag. Bern (Francke) 1907. 42 p. 8°. 1,20 M.

Kranepuhl, Beiträge zur Frage der Abwasserdesinfektion mittels Chlorkalkes. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. Berlin. 1907. Heft 9. p. 149—161.)

Kraus, A., Untersuchungen über Desinfektionsmittel. 1. 2. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXVI. 1907. Heft 2. p. 130—171.)

Kurpjuweit, O., Zur Frage der Desinfektion ungereinigter und gereinigter städtischer Abwässer mit Chlorkalk. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1907. Heft 9. p. 162—184.)

Madsen, Th. und **Nyman, Max**, Zur Theorie der Desinfektion I. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. 1907. Heft 3. p. 388—404.)

Madsen, Th. et **Nyman, Max**, Contributions aux études théoriques sur la désinfection. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XL. 1907. N. 4. p. 113.)

Nash, J. T. C., Disinfection and disinfectants. (Practitioner. Vol. LXXIX. 1907. N. 3. p. 412—424.)

Neri, Filippo, La teoria della disinfezione a vapore. (Fine.) (Riv. d'igiene e di sanità pubbl. Anno XVIII. 1907. N. 16. p. 488—497.)

Schwarz, Friedrich, Transportabler und fahrbarer Desinfektionsschrank mit isolierender Auskleide- und Waschkammer. (Wiener med. Wchnschr. Jg. LVII. 1907. N. 26. p. 1279—1282. 4 Fig.)

Selter, H., Ueber ein neues Formalin-Desinfektionsverfahren. (Verh. Ges. Dtscher Naturf. u. Aerzte. 78. Vers. Stuttgart 1906. Teil II. Hälfte 2. p. 381—382.)

Sternberg, Carl, Desinfektionsversuche mit Autan. (Hyg. Rundsch. Jg. XVII. 1907. N. 17. p. 1033—1038.)

Teichert, Kurt, Ueber desinfizierende Wandanstriche. (Königsberg. land- u. forstw. Ztg. Jg. XLIII. 1907. N. 28. p. 207—208.)

Wolf, Ueber die Verwendung von Kresolpräparaten zur Desinfektion, mit besonderer Berücksichtigung von Ennan, einem festen Kresolseifenpräparat in Tablettenform. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XX. 1907. N. 14. p. 475—483.)

Xylander, Versuche mit einem neuen Formalin-Desinfektionsverfahren u. Autanverfahren. (Arb. a. d. k. Gesundheitsamte. Bd. XXVI. 1907. Heft 1. p. 59—72.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aderhold, Ueber die Beobachtung der Pflanzenkrankheiten. [Vortrag.] (Handelsbl. f. d. dtschen Gartenbau. Jg. XXII. 1907. N. 24. p. 262—264; N. 25. p. 271—272.)

Aderhold, Rud. und **Ruhland, W.**, Der Bakterienbrand der Kirschbäume. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1907. Heft 6. p. 293—340. 1 Taf. u. 12 Fig.)

Arnold, F., The Maggot fly. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 20. p. 907—908. 1 Fig.)

Beauverie, J., La maladie des platanes. (Compt. rend. Assoc. franc. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. Notes et mém. p. 370—383.)

Bernard, Ch., Nog eenige woorden over Pestalozzia palmarum. (Teysmannia. XVIII. 1907. p. 327—328.)

Bertog, Ackertannen. (Der Landbote. Jg. XXVIII. 1907. N. 37. p. 839—842.)

Bioletti, Fr. T., Oidium or powdery mildew of the vine. (Bull. Univ. Californ. Publ. 1907. p. 315—352.)

Bock, Die Nonnenraupe (Liparis pronacha). (Königsb. land- u. forstw. Ztg. Jg. XLIII. 1907. N. 38.)

Briosi, G. e **Farneti, R.**, Intorno alla ruggine bianca dei limoni. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia 2, X, 1907. p. 1—60. 11 Taf.)

Brizi, Ugo, Ricerche su alcune singolari neoplasie del pioppo e sul bacterio che le produce. (Atti Congr. Natural. Ital. Milano 1906, ersch. 1907. p. 376—392. 1 Taf.)

Brunet, Raymond, Le sphinx de la vigne. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907 T. XXVIII. 1907. N. 707. p. 5—7. 1 Taf.)

Burdon, E. R., The spruce-gall and larch-blight disease caused by Chermes and suggestion for their prevention. (Journ. econ. biol. II. 1907. p. 1—13.)

Busse, W., Untersuchungen über die Krankheiten der Zuckerrübe. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1907. Heft 6. p. 341—342.)

Butler, E. J., Some diseases of Cereals caused by Sclerospora graminicola. (Mem. Depart. Agr. Ind. II. 1907. p. 1—24. 5 Taf.)

—, Some diseases of palms. (Bull. Jamaica Depart. agr. V. 1907. p. 48—58.)

Cholodkovsky, N., Die Koniferenläuse Chermes, Feinde der Nadelhölzer. Berlin 1907. 44 p. 8°. 6 Taf. 3 M.

Clinton, G. P., Dry rot fungus. (Rep. Conn. Agr. Exp. Stat. V. 1907. p. 336—341.)

—, Root rot of tabacco. (Rep. Conn. Agr. Exp. Stat. V. 1907. p. 342—368.)

—, Notes on fungous diseases for 1906. (Rep. Conn. Agr. Exp. Stat. V. 1907. p. 307—331.)

Cordel, Oskar, Spinne und Obstmade. (Gartenflora. Jg. LVI. 1907. p. 456; p. 517—519.)

Diedicke, H., Die Blattfleckenkrankheit des Efeus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 4/6. p. 168—175. 1 Taf.)

Douglas, Gertrude E., The formation of intumescences on potato plants. (Bot. Gazette. Vol. XLIII. 1907. N. 4. p. 233—250. 9 Fig.)

Evans. J. B., Pole, Notes on plant diseases. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 19. p. 680—682.)

—, The South African locust fungus. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 20. p. 933—939. 1 Taf.)

von Faber, F. C., Untersuchungen über die Krankheiten der Zuckerrübe. 1. Ueber den Pustelschorf der Rüben. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. V. 1907. Heft 6. p. 341—350. 1 Taf.)

Farneti, R., Ricerche sperimentali ed anatomo-fisiologiche intorno all' influenza dell' ambiente e della sovrabbondante concimazione sulla diminuta o perduta resistenza al brusone del riso bertone e di altra varietà introdotte dall' estero. (Riv. patol. veget. II. 1907. 11 p.)

—, Intorno ad alcune malattia della vite non ancora descritte od avvertite in Italia. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. 1907. p. 72—76.)

—, Il marciume dei bocciuoli e dei fiori delle rose causato da una forma patogena della Botrytis vulgaris Fr. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. 1907. p. 77—78.)

—, Intorno al brusone del riso ed ai posibili rimedi per combatterlo. (Atti istit. bot. Univ. Pavia. 1907. p. 203—213.)

Froggatt, Walter W., The eastern plague Locust (Oedaleus senegalensis Krauss). Some suggestions how to cheek them. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 6. p. 539—543. 1 Taf.)

Hagedorn, Max, Kopalborkenkäfer. (Verh. d. Ver. f. naturw. Unterhaltung zu Hamburg 1905—1907. Bd. XIII. p. 109—112. 2 Fig.)

Hiltner, L., Bericht über die im laufenden Jahre aufgetretenen Schädlinge und Krankheiten der Feldfrüchte. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 8. p. 90—94.)

—, Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 8. p. 88—90.)

Hollrung, Ueber die Krankheiten der Zuckerrübe, welche in enger Beziehung zu deren Kultur stehen. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIV. 1907. N. 11. p. 164—171.)

Hopkins, A. D., The white-pine weevil (Pissodes strobi). Washington 1907. 8 p. 6 Fig. (Circ. Dep. Agric.) —,80 M.

Houard, C., Sur les caractères histologiques d'une Cécidie de Cissus discolor produite par l'Heterodera radicicola Greeff. (Compt. rend. Assoc. franc. pour l'avanc. d. sc. Lyon 1906. Notes et mêm. p. 447—453. 7 Fig.)

Howard, C. W., Two little-known ticks of the Transvaal. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 19. p. 581—584. 2 Taf.)

—, Locust destruction during the season 1906—1907. (Transvaal agric. Journ. Vol. V. 1907. N. 20. p. 947—953. 4 Taf.)

Hume, H. Harold, Molestias fungicas das laranjeiras. (Boletino da Directoria da Agric. do Estado da Bahia. Anno V. Vol. IX. 1907. N. 5. p. 473—477.)

Kern, F. D., Indiana plant diseases in 1906. (Bull. Purdue Univ. agr. Exp. stat. 119. 1907. p. 427—432.)

Köck, Gustav, Die Exoascuskrankheiten unserer Obstbäume und ihre Bekämpfung. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 32. p. 254.)

—, Eine Blattlausepidemie der Gurken. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 36. p. 283.)

Köhler, H., Agave tequilana, Agavenkrankheiten und Agavenfeinde. (Prometheus. Bd. XVIII. 1907. p. 489—493. Mit Fig.)

Korff, G., Fadenwürmer im Weinstock und im Birnbaum. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 6. p. 67—69. 1 Fig.)
—, Ueber die „bakterielle" Gummosis des Weinstockes. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 9. p. 97—101. 1 Fig.)
—, Brandkrankheiten an gärtnerischen Kulturpflanzen. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 8. p. 79—82. 1 Fig.)
Krasser, Fridolin, Neuere Untersuchungen über die physiologischen Krankheiten des Weinstockes und deren Bekämpfung. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 31. p. 303—305.)
Krause, Fritz, Mitteilung der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Kaiser Wilhelm-Inst. f. Landw. in Bromberg. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. XXXV. 1907. N. 39. p. 439—441.)
—, Zwei Blattkrankheiten der Gerste. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. XXXV. 1907. N. 27. p. 298.)
—, Die Krautfäule der Kartoffeln. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. XXXV. 1907. N. 33. p. 371—372.)
Laubert, R., Was weiß man über die Ueberwinterung des Oidium und einiger anderer Mehltaupilze? (Mitt. d. Dtschen Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 8. p. 264—267.)
Lefroy, H. M., The pests of introduced cottons. (Agric. Journ. of India. Vol. II. 1907. P. 3. p. 283—286.)
—, Locusts in India. (Agric. Journ. of India. Vol. II. 1907. P. 3. p. 237—245. 7 Taf.)
—, Insect pests of Jute. (Agric. Journ. of India. Vol. II. 1907. P. 3. p. 109—115. 1 Taf.)
v. Linstow, O., Ueber Bohrgänge von Käferlarven im Braunkohlenholz. Berlin 1906. 4 p. 8⁰. 1 Fig. (Jahrb. Geol. Landesanstalt.) —,30 M.
Mährlen, Das Gelbwerden der Weinberge. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 7. p. 96—97.)
Mährlen, Der Rebstockfallkäfer (Eumolpus vitis) als Traubenschädiger. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 8. p. 117—118.)
Manceau, E., Sur le Coccus anomalus et la maladie du bleu des vins de Champagne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 5. p. 352—354.)
Manceau, E., A propos du Coccus anomalus et de la maladie du „bleu" des vins de Champagne. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 712. p. 160—161.)
Marchal, Paul, L'acariose des avoines ou maladie des avoines vrillées. (Ann. de l'inst. nat. agron. Sér. II. T. VI. 1907. Fasc. 1. p. 185—196. 5 Fig.)
Mazé, P. et **Pacottet, P.**, Sur les ferments des maladies des vins et spécialement sur le Coccus anomalus et la maladie du Bleu des vins de Champagne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 2. p. 141—143.)
Meissner, Ueber eine Ursache des Absterbens von Rebtrieben im Jahre 1907. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 7. p. 93—94. 1 Fig.)
Mn., Die Verbreitung der Reblaus in Oesterreich. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 8. p. 112—114.)
Molz, E., Contarinia viticola, ein wenig bekannter Blütenschädling der Reben. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. R. Wiesbaden. Jg. LXXXIX. 1907. N. 26. p. 165.)
Naumann, Arno, Die Pilzkrankheiten gärtnerischer Kulturgewächse und ihre Bekämpfung 1. Gemüse, Stauden und Annuelle, Kalt- u. Warmhauspflanzen. Für Gärtner . . . . Dresden (Heinrich) 1904. VIII, 156 p. 8⁰. 3 Taf. u. viele Fig. 3 M.
Nelson, A., Some potatoe diseases. (Bull. Wyoming agr. exp. Stat. 71. 1907. p. 1—39.)
Neger, F. W., Eine Krankheit der Birkenkätzchen. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. Heft 7. p. 368—372. 1 Fig.)
Paul, H., Tipula-Fraß auf Moorwiesen. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 8. p. 76—78.)
Petch, T., Root diseases of tea. (Trop. agric. Mag. N. Ser. Vol. XXVIII. 1907. p. 292—296.)
Petch, T., Root diseases of tea. (Tropical Agriculturist. Colombo. N. S. Vol. XXVIII. 1907. N. 5. p. 292—295. 1 Taf.)
—, Bud rot of the Cocoanut palm. Cocos nucifera. (Circ. agr. Journ. R. bot. garden. Ceylon III. 1906. p. 223—226.)
—, Root disease of Hevea brasiliensis, Fomes semitostus Berk. (Circ. agr. Journ. R. bot. Garden Ceylon III. 1906. p. 237—242.)
Philipps, E. F., Present status of the investigation of Bee-diseases. (Rep. of the meet. of Inspectors of Apiaries, San Antonio, Texas. Nov. 12. 1906.)
Reijnvaan, J. and **v. Leeuwen, W. D.**, Aulax papaveris Perr., its biology and the development of the gall, which it produces. (Marcellia. V. 1906. p. 137—151.)
Richter, W., Kleine Feinde des Obstbaumes. (Dtsche landw. Ztg. Jg. L. 1907. N. 23. p. 90.)
Robertson, R. A., On the histology of plant galls 1. Xestophanes tormentillae. (Proc. Scottish microsc. Sc. IV. 1906. p. 136—141.)

Rosenberg, Joh., Die Holzkrankheiten der Obstbäume. (Schweizer landw. Ztschr. Jg. XXXV. 1907. Heft 21. p. 539—541. 2 Fig.)

Rostrup, E., Oversigt over landbrugsplanternes Sygdomme 1905. (Tidsskr. Landbr. planteavl. Bd. XIII. 1906. p. 79—115.)

Sajo, K., Ueber die Linsengallen der Eichenblätter und über Gallwespen überhaupt. (Prometheus. Bd. XVIII. 1907. p. 433—439; 454—456.)

Salmon, E. S., On the American gooseberry mildew and the need for legislation. (Journ. R. Hort. Soc. Vol. XXXI. 1906. p. 128—137.)

Salmon, E. S., Cherry leaf scorch. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 6. p. 334—344.)

—, On a Fungus disease of the cherry lauret (Pranus Laurocerasus). (Ibid. p. 192—196.)

Schander, R., Die im Jahre 1906 in den Provinzen Posen und Westpreußen beobachteten Krankheiten und Schädlinge der Rüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XIV. 1907. N. 8. p. 113—119.)

van Schrenk, Hermann, The wrapping of apple grafts and its relation to the crown-gall disease. (U. S. Dep. of agric. Bur. of plant industry. Bull. N. 100. 1907. Miscell. Pap. p. 13—20.)

Schultz, G., Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 9. p. 101—103.)

Schulte, Aug., Die Blattfallkrankheit oder der falsche Mehltau der Weinstöcke Peronospora viticola. Berlin (Parey) 1907. 31 p. 8°.

v. Seelhorst, Der Blasenfuß (Limothrips) im Roggen. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXIV. 1907. N. 49. p. 409—410. 1 Fig.)

Selby, A. D., On the occurrence of Phytophthora infestans Mont. and Plasmopara cubensis Humph. in Ohio. (Ohio Natural. VII. 1907. p. 79—85.)

Shear, C. L., Cranberry diseases. (George Wash. Univ. Bull. Washington. Vol. V. 1906. p. 75—78.)

Silva, E., Il Roncet, delle vitri. Lettera aperta al professore Ravaz. (Coltivatore. T. LII. 1906. p. 773—776.)

Smith, R. E., Report of the plant pathologist to July 1, 1906. (Bull. Univ. Calif. Publ. 184. 1907. p. 219—258.)

Spieckermann, Maßnahmen zur Verhütung einer weiteren Verbreitung der Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LXIV. 1907. N. 31. p. 437.)

—, Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 9. p. 103—104.)

Spitz, L., Baumkrebs, Brand und Frostplatten. (Wchnbl. d. Bad. landw. Ver. 1907. N. 37. p. 565—567.)

Stefani-Perez, T., Miscellanea cecidologica. (Marcellia. T. V. 1906. p. 127—130.)

—, Contributo all' entomofauna dei cecidii III. (Ibid. p. 131—134.)

Stevens, F. S., Puccinia upon Melothria. (Bot. Gazette. Vol. XLIII. 1907. N. 4. p. 282—283. 1 Fig.)

Stift, A., Einige Bemerkungen über den Gürtelschorf der Zuckerrübe. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XIV. 1907. N. 10. p. 151—153.)

Sycamore leaf blotch (Rhytisma acerinum Fries). (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 2. p. 106—107. 1 Fig.)

Theobald, F. v., Vegetal pests. (Rep. Wellcome Research Laborat. Khartoum. Vol. II. 1906. p. 93—96.)

Thomson, J., A disease Garden. (Proc. R. Soc. Queensland. Vol. XIX. 1906. p. 73—87.)

Trail, J. W. H., Gooseberry mildews. (Ann. Scottish Nat. Hist. 1907. p. 109—111.)

Trotter, A., La patologia vegetale nelle esposizione. (Giorn. vit. enol. T. XIV. 1906. 2 p.)

Tullgren, Albert, Notiser rörande sköldlöss. (Entomol. Tidskr. Årg. XXVII. 1906. Heft 3/4. p. 158.)

—, Intryck från en praktisk-entomologisk studiereresa i utlandet, Sommaren 1906. (Ibid. p. 159—181.)

Ueber den Einfluß der Witterung auf das Auftreten der Peronospora viticola. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XIX. 1907. N. 6. p. 93—98.)

Wahl, Bruno, Kornmotte und weißer Kornwurm. (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 40. p. 318.)

—, Die Getreidehalmwespe (Cephus pygmaeus L.) und deren Bekämpfung. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 36. p. 286.)

Wagner, W., Ueber die Gallen der Lipara lucens Meig. (Verh. d. Ver. f. naturw. Unterhaltung zu Hamburg 1905—1907. Bd. XIII. p. 120—135. 10 Fig.)

Wanner, A., Die Peronospora im Seinebassin, im Wasgau und im oberen Rheinbecken. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXV. 1907. N. 20. p. 493—495.)

Whetzel, H. H., The blight canker of appletrees. (Bull. Cornell exp. Stat. 1906. p. 99—138.)

—, Some diseases of beans. (Bull. N. Y. Cornell exp. Stat. 239. 1907. p. 195—214.)

White, G. F., Bacteriology of the Bee-diseases. (Rep. of the meet of Inspectors of Apiaries, San Antonio, Texas. Nov. 12, 1906.)

Wingelmüller, C., Zwei Schädlinge der Lärche, Graphilitha zebeana und Dasyscypha willkommi. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. p. 27.)

Zacharewicz, Ed., Insectes et maladies des plantes maraîchères. (Rev. de viticult. Année XIV. T. XXVIII. 1907. N. 710. p. 111—112.)

—, Maladies des arbres fruitiers. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 714. p. 215—217.)

Zimmermann, A., Ueber eine Krankheit der Erdnüsse (Arachis hypogaea). (Der Pflanzer. Jg. III. 1907. N. 9. p. 129—133.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Bolle, Carl, Die Bekämpfung der Ameisen- und Heuschreckenplage in Südamerika. (Tropenpflanzer. Jg. XI. 1907. N. 6. p. 392—401.)

Die Tätigkeit der autonomen Landesbehörden auf dem Gebiete der Bekämpfung der Reblaus und der Wiederherstellung der durch sie zerstörten Weingärten. (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 34. p. 391—395.)

Douchement, Ern., Les tirs contre la grêle Loir-et-Cher. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 704. p. 671—672.)

Dümmler, Merkblatt für die Bekämpfung der Blattfallkrankheit der Reben (Peronospora viticola). (Wchnbl. d. landw. Ver. im Großherzogt. Baden. 1907. N. 18. p. 282—283.)

Ein neues Verfahren zur Herabminderung des Verbrauches von Kupfervitriol. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 21. p. 203—204.)

Ekert, W., Maßregeln gegen die Reblauskrankheit. Sammlung der im Königr. Württemberg geltenden reichs- u. landesrechtl. Vorschriften, nebst einer v. d. kais. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. veröffentl. Belehrung üb. d. Reblauskrankheit. Stuttgart (Kohlhammer) 1907. VIII, 112 S. 8°. —,70 M.

Ewert, Die fungicide und physiologische Wirkung der kupferhaltigen Brühen, mit besonderer Berücksichtigung der Bordeauxbrühe. (Mitt. d. Dtschen Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 7. p. 223—236; N. 8. p. 244—261.)

Gescher, Cl., Wie man den Wurm nicht bekämpfen soll. (Mitt. d. Dtschen Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 8. p. 261—263.)

Grimm, 1. Bekämpfung des Ackermohns. 2. Bekämpfung der Erdflöhe. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. V. 1907. Heft 6. p. 70—71.)

Grimm, Arthur M., Bekämpfung der Blattläuse auf Obstbäumen und Hopfen. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXV. 1907. N. 35. p. 386—387. [Oesterr. landw. Wochenbl. N. 31.].)

Gross, Bekämpfung der Spargelschädlinge. (Hannoversche Land- u. Forstw. Ztg. Jg. LX. 1907. N. 24. p. 554—555.)

Hiltner, L., Ueber die bisherigen Maßnahmen zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Mitt. d. Dtschn Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 1. p. 162—177; N. 7. p. 207—217.)

—, Ueber das Auftreten der Feldmäuse und deren Bekämpfung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. V. 1907. Heft 5. p. 50—51.)

—, Ueber die Bekämpfung der Ratten- und Mollmäuse. (Ibid. Heft 6. p. 61—63.)

Kirchner, O., Die Bekämpfung der Feldmäuse. (Flugblatt d. k. Württemb. Anst. f. Pflanzenschutz in Hohenheim. 1907. N. 8. 3 p.)

Kulisch, Zur Herstellung der Kupfersodabrühe. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXV. 1907. N. 22. p. 210.)

Laschke, Carl, Anweisung zur Bekämpfung der Kiefernschütte durch Kupfersalzlösungen. (Landw. Centralbl. Jg. XXXV. 1907. N. 24. p. 261—262.)

Les tirs contre la grêle en Beaujolais. (Rev. de viticult. Année XIV. T. XXVIII. 1907. N. 711. p. 133—134.)

Lüstner, Gustav, Aufforderung zur Bekämpfung des Rebstechers. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XIX. 1907. N. 6. p. 103—104. 1 Taf.)

Mährlen, Auf zum Kampf gegen die Peronospora. Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 5. p. 57—58.)

—, Der Kampf gegen die Reblaus in Deutschland. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 5. p. 59—61.)

Mährlen, Auszug aus der 28. Denkschrift, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit im Jahre 1905. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 6. p. 77—80.)

Marès, R., La pratique des bouillies arsenicales. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. T. XXVIII. 1907. N. 707. p. 8—10; N. 708. p. 36—38; N. 709. p. 69—72; N. 710. p. 95—97.)

Meissner, Versuche zur Bekämpfung der Rebenschildläuse. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 7. p. 94.)

Meissner, Ein empfehlenswerter Schwefelverteiler. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 8. p. 109—110. 1 Fig.)

Inhalt.

Referate.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 11. Dezember 1907.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 8|9.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Bedeutung von Gips, kohlensaurem Kalk und Soda für die Hefe.

[Mitteilung aus dem technisch-wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe.]

Von **W. Henneberg**, Berlin.

Nach den grundlegenden Versuchen von Adolf Mayer über die Art der Mineralstoffe, die zur Ernährung der Hefe nötig sind, ist unter anderen Stoffen auch Calcium und Natrium als unnötig erklärt worden. Viele Beobachtungen aus der Praxis, so z. B. von Seyffert, weisen aber auf außerordentlich große Vorteile hin, die durch eine ausreichende Anwesenheit von Calcium in den Würzen und Maischen erreicht werden. Gute Gärungserscheinungen, wie der schnellere Verlauf der Gärung, besseres „Flocken" der untergärigen Bierhefe und das dadurch bedingte schnellere Absitzen derselben, sind oft als Folge des natürlichen Kalkgehaltes des Wassers oder des vorgenommenen Kalkzusatzes anzusehen. Die Beobachtung von Kossowicz, daß eine Menge von 0,01 Proz. Calciumchlorid die Hefe recht bedeutend zur Vermehrung anzuregen vermag, gehört ebenfalls hierher.

Untersuchungen über die Bedeutung des Calcium wurden bei Versuchen über den Einfluß von Getreidemehl (Roggen, Weizen, Gerste — nicht Hafer, Mais), Pepton und Hühnereiereiweiß auf gärende Hefe, die im technisch-wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe vorgenommen wurden, von neuem angeregt. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß die genannten Zusätze unter bestimmten Bedingungen, die weiter unten noch zu nennen sind, die Gärkraft der untergärigen Bierhefen stark herabsetzen, teilweise sogar fast gänzlich aufheben können. Verfasser fand, daß dies auf ein frühzeitiges Absterben der Hefezellen zurückzuführen war. Wie an anderer Stelle später noch mitzuteilen ist, beobachtete Verfasser ferner, daß eine Spur Kalksalz (Gips, Kreide, Chlorcalcium u. s. w.), Soda, Pottasche, Ammoniak, Ammoniakkarbonat das Absterben völlig zu verhindern vermag, so daß die Hefe hohe Gärkraft aufweist.

Zur Erklärung dieser eigentümlichen Erscheinung mußte also zunächst eine Neubearbeitung der „Kalkfrage" vorgenommen werden. In der Versuchsbrauerei erzielte Fr. Hayduck durch Einbringen von Kreide in den Maischbottich eine bedeutend schnellere Gärung und schnelleres Klarwerden der vergorenen Würze. Verfasser nahm die Studien über die „Kalkfrage" im Laboratorium von verschiedenen Seiten aus in Angriff. Einige der bisherigen Ergebnisse mögen hier mitgeteilt sein:

Das Verhalten der Hefe in wässerigen Lösungen wurde zunächst geprüft.

I. In destilliertem Wasser ohne jeden Zusatz sterben die

Hefezellen erst nach Tagen ab, vor allem wohl durch Hunger. Durch 24-stündiges Lagern unter destilliertem Wasser werden die Hefezellen bereits stark geschwächt, wie z. B. aus ihrer Empfindlichkeit gegen Getreidemehlbehandlung (Roggen-, Weizen-, Gerstenmehl) hervorgeht.

Bei höherer Temperatur sterben die Zellen in destilliertem Wasser viel schneller, so waren z. B. bei 40° C nach 24 Stunden 50 Proz. tot. Wenn Kreide zugesetzt war, so waren nur 10 Proz. tot!

Ein Zusatz von 0,2 Proz. Oxalsäure tötet in 24 Stunden weder die Bierhefe noch die Preßhefe ab, macht beide Rassen aber sehr empfindlich gegen eine spätere Behandlung mit Getreidemehl.

Mehl von Roggen, Weizen und Gerste, ferner Pepton und Hühnereiweiß töten die Hefezellen in destilliertem Wasser nicht.

II. Destilliertes Wasser mit 10 Proz. Rohrzucker.

Es tritt bekanntlich schnell eine lebhafte Gärung ein. Nach 2 Stunden bei 30° C sind bei der untergärigen Bierhefe 20—60 Proz., bei den Brennereihefen nur 14—25 Proz. Zellen tot. Das mehr oder weniger schnelle Absterben ist übrigens von dem physiologischen Zustand, der Rasse, der Menge der Hefe, sowie von der Temperatur abhängig.

Bestimmte Salze, wie Kaliumsulfat, verhindern unter diesen Bedingungen das Absterben nicht, dagegen tun dies Kalksalze (Kreide, Calciumchlorid, weniger Gips), ferner Ammoniak (0,01 Proz.), Ammoniumkarbonat (0,1 Proz.), Dikaliumphosphat, Kalium- und Natriumkarbonat, also vor allem basische Salze. In einem Kontrollgefäß waren z. B. am 5. Tage sämtliche Zellen tot, bei Zusatz von 0,25 Proz. Calciumchlorid erst 5 Proz. Bei der Brennereihefe Rasse XII waren in 24 Stunden bei 15 Proz. Zucker 50 Proz. Zellen, bei Zusatz von 0,25 Proz. Soda erst 1 Proz. abgestorben. Die Gärkraft wird außerdem durch 0,05 Proz. Soda oder Pottasche, durch 0,005 Proz. Ammoniak und 0,1 Proz. Kreide ziemlich erheblich angeregt, in nur mäßigem Grade durch 0,1 Proz. Gips.

Oxalsäure wirkt viel giftiger als ohne Zucker. Nach 2 Stunden bei 0,005 Proz. sind bei der Bierhefe 80 Proz.; bei derselben Menge Oxalsäure bei der Brennereihefe nach 24 Stunden erst 50 Proz. Zellen in abgestorbenem Zustand. Bei 0,05 Proz. Oxalsäure sind bei der Bierhefe nach 2 Stunden bereits 95 Proz., bei der Brennereihefe erst 2 Proz. Zellen tot. Andere Stoffe, wie z. B. Schwefelsäure, töten bei Abwesenheit von Zucker in stärkerem Grade.

III. Nährlösungen mit 10 Proz. Rohrzucker.

Gewöhnliches Wasser mit Zucker tötet bedeutend weniger, z. B. Brennereihefe nach 2 Stunden bei 30° bis zu 1—2 Proz., ab.

Alkalische oder sehr schwach saure Lösungen bedingen unter diesen Verhältnissen ein viel längeres Leben als saure (Kontrolle z. B. 99 Proz. Zellen tot, Kreide erst 5 Proz. tot). Die an dieser Stelle demnächst zu referierende Arbeit des Verfassers: „Zum Verhalten der Kulturheferassen in zusammengesetzten Lösungen" (Wochenschrift für Brauerei. No. 40—45) bringt hierüber nähere Angaben.

Ein Zusatz von Calciumchlorid, Calciumphosphat, meist auch Gips, verlangsamen ebenfalls das Absterben (Kontrolle z. B. 99 Proz., bei Gips 40 Proz., Calciumphosphat 33 Proz. tot).

Die Flockenbildung der untergärigen Bierhefe wird in neutralen, schwach alkalischen oder schwach sauren Lösungen erheblich besser. Sehr günstig wirkt auch milchsaurer Kalk.

Die Alkoholausbeute wird bei Zusatz von Kreide, Soda, Kalkphosphat, Gips u. s. w. öfters bedeutend vergrößert.

Zusätze der oben genannten Mehlsorten, Pepton und Hühnereiweiß haben in gewöhnlichem Leitungswasser ohne und mit Zucker keine abtötende Wirkung. In destilliertem Wasser mit Zuckerzusatz töten die genannten Stoffe die Brennereihefen („Preßhefen") überhaupt nicht oder nur in manchen Fällen (alte oder matte Hefe) in geringem Grade, auffallend stark dagegen die untergärigen Bierhefen. Die Arbeiten des Verfassers hierüber werden demnächst an dieser Stelle referiert. In 16 Minuten können z. B. bis 90 Proz., in 2 Stunden bis zu 99 Proz. Zellen abgestorben sein! Gewöhnliches Wasser allein oder die oben genannten Zusätze zum destillierten Wasser verhindern völlig das Absterben. Nährlösungen mit Magnesiumsulfat, phosphorsaurem Kalium u. s. w. verhindern die abtötende Wirkung des Pepton-Witte, wie ja schon aus dem günstigen Wachstum der Bierhefen in solchen Lösungen ohne weiteres zu schließen ist.

Würzetrubzusatz verhindert nicht das Absterben trotz des hohen Kalkgehaltes. Letzterer ist offenbar nicht in der geeigneten Form vorhanden.

IV. Bierwürze.

Je nach Heferasse, sowie Temperatur und Konzentration der Würze sterben nach der Gärung die Zellen ziemlich bald ab. In einer 12° Bllg.-Würze waren z. B. am 6. Tage bei 27° C von den Brennereihefen 50 Proz. Zellen, von den obergärigen Bierhefen 80—90 Proz. und von den untergärigen Bierhefen 25—50 Proz. abgestorben.

Ein Zusatz von Kreide, Soda oder dergleichen zur Würze verzögert auffallend das Absterben. Während z. B. am 26. Tage in der Kontrollwürze bei Zimmertemperatur bei den untergärigen Bierhefen 95 Proz. Zellen tot waren, lebten in der Würze mit Kreidezusatz noch 99 Proz. Am 41. Tage waren in der Kontrollwürze bereits 97 Proz., in der Würze mit Kreide erst 5—10 Proz. in abgestorbenem Zustand. In manchen Fällen, z. B. bei einer obergärigen Bierhefenrasse, verzögerte auch Gips erheblich das Absterben (80:20 Proz.).

Eine Würze, die durch Rohrzuckerzusatz bis auf 22° Bllg. verstärkt ist, läßt ebenso den günstigen Einfluß der genannten Zusätze erkennen. Dagegen sind bei sehr konzentrierten Würzen (z. B. 32° Bllg.) die Unterschiede wegen des hohen Alkoholgehaltes nicht mehr vorhanden.

Durch die Zusätze wird auch das Flocken der Bierhefen erheblich verstärkt. Die Vergärung wird manchmal deutlich beschleunigt (milchsaurer Kalk, Calciumchlorid). Gegen Soda bis zu 0,5—1 Proz. ist die Hefe sehr wenig empfindlich. Die Vergärung ist in alkalischer Würze ebenso oder fast ebensogut wie in der gewöhnlich schwach sauren.

Würze von stärkerer Konzentration, z. B. 21° Bllg., mit Mehlzusatz wirkt auf Bierhefe ebenfalls abtötend. Nach 1 Stunde 50 Minuten waren bereits 98 Proz. Zellen abgetötet, so daß innerhalb 24 Stunden überhaupt keine Gärung eintreten konnte. Dieselbe Würze mit gewöhnlichem Wasser bis auf 16° Bllg. verdünnt zeigte fast dasselbe, während bei einer Verdünnung bis auf 10° Bllg. eine mäßigere und bei einer solchen bis auf 5° Bllg. keine Einwirkung mehr festzustellen war. Die beiden in der zuletzt genannten Weise verdünnten Würzen waren nach 2 Tagen wie die gleichen Kontrollwürzen ohne Mehlzusatz normal vergoren.

Wenn destilliertes Wasser zur Verdünnung genommen wurde, so war auch bei 10 und 5° Bllg. die abtötende und daher gärungverhindernde Einwirkung des Mehlzusatzes noch in starkem Maße vorhanden.

Auch in diesen Versuchen mit Würze wurde die ungünstige Einwirkung des Mehles durch Zusatz von Kalkphosphat, Gips, Kreide, Soda u. s. w. nicht nur vollständig aufgehoben, sondern in eine günstige verwandelt, indem eine starke Anregung und Verbesserung der Gärung beobachtet werden konnte.

Hansen empfiehlt bekanntlich, die Hefereinkulturen unter Rohrzuckerlösung aufzubewahren, was auch nach den obigen Befunden als durchaus vorteilhaft erscheint.

V. Was könnten die Ursachen der genannten Beobachtungen sein? Die Hefen sterben aus Alkalimangel. Ein solcher ist in destilliertem Wasser mit Zuckerzusatz selbstverständlich vorhanden. In Würze müssen manchmal ebenfalls die geeigneten Alkalien oder solche in genügender Menge fehlen, da Mehlzusatz, wie wir sahen, abtötend wirkt, was nur bei Mangel an solchen eintreten kann. Im Pepton, Hühnereiereiweiß und auch im Mehl muß dasselbe der Fall sein. Erst durch längere Einwirkung von Säuren auf Mehl, wodurch tatsächlich die abtötende Wirkung aufgehoben wird, werden, so müssen wir annehmen, die betreffenden Mineralstoffe in die geeignete Form gebracht. Eigelb und Milch töten unter diesen Bedingungen nicht ab, enthalten ja auch reichliche Mengen Alkalien.

Auch in der Hefenzelle müssen die Kalksalze oder Basen, obwohl die chemische Analyse z. B. reichlich Kalk nachweisen kann, in der geeigneten Form oder Menge fehlen.

Die Wichtigkeit der Alkalien deutet jedenfalls auf eine Säurebildung im Zellinnern. Säuren entstehen sicherlich im Plasma bei der Eiweißzersetzung, ferner bei der Verbrennung des Zuckers und schließlich nach der Buchnerschen Annahme auch bei der Umwandlung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure (Milchsäure). Ob es sich hier um Oxalsäure handelt, wofür vieles spricht, oder um andere giftig wirkende Säuren z. B. Phosphorsäure (aus dem Nuclein!) läßt sich vielleicht noch nachweisen.

Besonders beachtenswert und interessant ist die Tatsache, daß nur untergärige Bierhefen (nicht die obergärigen) unter den genannten Bedingungen bei Mehl-, Hühnereiereiweiß- und Peptonzusatz absterben. Bei der Erklärung dieses auffallenden Unterschiedes zwischen den Heferassen muß daran erinnert werden, daß die untergärige Bierhefe in allen Fällen z. B. bei Trocknung, Erhitzung, Gifteinwirkung (besonders auch bei Oxalsäure) u. s. w. weit empfindlicher als die obergärige Hefe ist. Ferner sind die Bierhefen viel lebhafter, beginnen schneller und stärker zu gären, besitzen daher also auch einen schnelleren Stoffwechsel. Vielleicht bilden sie auch in ihrem Innern leichter Säuren oder weniger Stoffe (Ammoniak u. s. w.), wodurch die Säuren unschädlich (neutralisiert) gemacht werden könnten. Nebenbei mag bemerkt sein, daß nach des Verfassers Beobachtung auch Weinhefen, Kahmhefe, Torula-Hefen u. s. w. durch Mehl abzutöten sind. Verfasser konnte z. B. eine Preßhefe fast gänzlich von Kahmhefe auf diese Weise reinigen.

Die Tatsache, daß Oxalsäure schon in einer Menge von 0,04 Proz. die Wirkung des Buchnerschen Hefepreßsaftes aufzuheben vermag, wie Lebedeff nachwies, beruht vielleicht ebenfalls auf einer Kalkentziehung. Andererseits regt ein Zusatz von Pottasche oder Di-

natriumphosphat, also von basischen Körpern, die Zymasetätigkeit im Preßsaft an.

Endotryptase und Zymase wirken unter gewöhnlichen Bedingungen nur im Innern der Zelle, so daß die dabei entstehenden Säuregifte unmittelbar auf das benachbarte Plasma zur Einwirkung kommen müssen. Wichtig ist vielleicht auch der Umstand, daß nur in saurer Lösung die Endotryptase energisch wirksam ist. Das Plasma könnte also bei Alkalimangel durch dies Enzym angegriffen werden.

Der Einwand, daß der Tod viel zu schnell unter den obigen Bedingungen eintritt, um sich auf die angegebene Weise erklären zu lassen, ist nicht stichhaltig, da die Hefe einen außergewöhnlich schnellen Stoffwechsel besitzt, wie schon aus der fast augenblicklich eintretenden Gasbildung der in Zuckerlösung eingebrachten Hefe zu folgern ist.

Pilze haben mit Tieren vieles gemeinsam. Die Tiere sterben, wenn sehr mineralstoffarme Nahrung eine Zeitlang gereicht wird, schneller als bei völligem Hungern. Ein Zusatz von Soda verlängerte unter diesen Bedingungen das Leben der Versuchstiere, während Kochsalz keinen Einfluß zeigte. Alkalimangel wird auch hier als Todesursache angenommen. Ferner, je mehr Eiweiß in der Nahrung, desto lebhafter ist der Eiweißzerfall im Organismus und auch desto mehr Alkalien sind zur Bindung der entstehenden Säuren nötig. Aehnlich dürfte es bei der Hefe sein.

Ob die Erklärungsweise für einzelne oder für sämtliche der genannten Beobachtungen zutrifft, müssen weitere Untersuchungen erst zeigen. Die Tatsache, daß jedes der bisher geprüften Kalksalze außer oxalsaurem Kalk die abtötende Wirkung des Getreidemehls aufhebt, während in den übrigen Fällen die Kalksalze (außer Kreide) meist viel weniger wirksam sind als die Karbonate oder alkalischen Salze (auch freies Ammoniak), deutet schon Unterschiede an.

Wichtig ist jedenfalls, daß Kreide und Soda bisher in allen Versuchen die gleiche Wirkung ausübten, so daß nicht Calcium oder Natrium als solches, sondern ihre neutralisierende Wirkung in Frage kommt.

Ueber die Giftigkeit von Ammonchlorid, -sulfat-phosphat u. s. w., sowie Aufhebung derselben durch Kalksalze u. dgl. wird später mitgeteilt werden.

A bitter fermentation of cheese.

[Department of Dairy Husbandry, University of Missouri.]

By Prof. **C. H. Eckles.**

A rather common defect of cheese is a bitter taste which develops while the cheese is curing. The same trouble also occurs at times in cream, milk and butter.

The subject of bitter cheese has been studied especially by Harrison[1]) and von Freudenreich[2]). The former found a certain yeast to be the cause of widespread complaints of bitter cheese, near Guelpha, Ontario, Canada. This yeast was found to live on the leaves

1) Bul. 120 Ont. Agr. College. 1902.
2) Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1894.

of trees from which it dropped into the open milk cans placed below. Dr. von Freudenreich investigated bitter cheese made in Switzerland and found as the active agent a bacteria which belongs to the lactic acid group. It has the power of coagulating milk by development of acid, aliquifies gelatine and produces an intensely bitter taste in cheese when inoculated into the milk from which cheese is made.

Prevalence of bitter cheese. This trouble is apparently quite common in the central part of the United States. Missouri is not a great cheese making State but of the fifteen factories of whom inquiry was made, six replied that they had experienced more or less trouble from this source, and in every case it occurred from middle summer to early winter. The following extracts from correspondence give an idea of the prevalence of this trouble:

Kiel Cheese and Butter Co., Kiel, Wisconsin. "We are not troubled to any great extent with this defect in our territory but have a run of it occasionally."

Barber & Co., Chicago. "We had a lot of 40 or 50 cheese made at Wisconsin in which we found a great many of this kind. We have also had quite a number of cases of this kind in cheese coming from New York."

Northwestern Cold Storage Co., Fond du Lac, Wisconsin. "We are having a good deal of bitter cheese."

U. S. Baer, Secy. Wisconsin. Cheesemakers' Association. "We have had but little complaint with bitter cheese in this State except in late fall and early winter. Recently in a eight month cheese scoring contest in this State one of the cheese exhibited was both sweet and bitter. One of our cheese factory inspectors visited the factory and reports several days make bitter as found in the curing room."

A Wisconsin cheese maker writes: "I can tell you little about bitter cheese except that it occurs at any time of the year but generally in the fall. It develops very slowly in the cheese not showing to any extent for a month or more."

A Missouri cheese maker writes: "We have a family cheese making outfit and have been making cheese for about two years and have had no bitter cheese until this season. About one-third of the cheese are bitter and others made under same temperature and by using the same color and rennet do not show any sign of this bitterness."

Another Missouri cheese maker writes: "I have been troubled with it more or less in the late fall."

Another: "We were not troubled with bitter cheese this year but last year we had considerable loss."

Harding[1]) mentions the occurrence of bitter fermentation in Neuchatel cheese made in a New York factory.

It appeared at frequent intervals in the cheese made in the Dairy Department of the Missouri Agricultural College in the fall of 1904 and a few times during August of the year 1905, and once in October 1906.

Separation of the organism. The bacteria causing this trouble was first isolated from a cheese made in August 1905. A distinctly bitter taste was observed in this cheese after it was one month old. Gelatine plate cultures showed a large number of liquifying colonies. Under normal conditions liquifying bacteri aare found only in smal numbers,

1) Bul. 183. N. Y. Agricultural Experiment Station.

if at all, in cheese. This liquifying organism, which is designated as B. 112, proved to be the cause of the bitter taste. Later the same bacteria was isolated from other lots showing the same defect. In February 1906 a sample of bitter cheese was received from C. F. Doane of the Dairy Division of the U. S. Department of Agriculture from Plymouth, Wisconsin. The following information was given by Mr. Doane regarding the cheese: "The cheese in question was made in one lot of a series for storage experiments at Plymouth, Wisconsin. It was made according to the regular cheddar process in a good factory and from good milk. The cheese made the day before and the day after were all first class. This particular lot of cheese was made for some paraffining experiments and part was paraffined fresh from the press and the rest at varying ages up to two weeks af age as I remember it now. The sample sent to you was paraffined the last of the lot and was the bitterest of the lot. This, I believe, is entirely contrary to popular belief."

This cheese was a part of a lot used in an experiment conducted by the Dairy Division and had been in storage since the previous summer. An examination of this cheese showed the same liquifying bacteria as found in the Missouri made cheese. It was present, however, in small numbers as would be expected from the age of the cheese.

In September 1907 the same organism was again isolated from a sample of brick cheese made in Wisconsin which showed a decidedly bitter taste.

It is believed this organism is not found normally in cheese as examination of eight samples of normal cheese of various ages failed to show its presence in a single case, while it has been found in every case of bitter cheese examined.

Cheese from inoculated milk.

The relation of the suspected bacteria to the production of bitter cheese was tested by the following experiments:

Experiment No. 1. November 10, 1905, 110 pounds of fresh skim milk was divided into two portions. To one lot of 55 pounds was added 50 c. c. of a bouillon culture of B. 112. The second lot was used as a check. Both lots were made into cheese using the sweet curd or Gouda system. Three days after making, the inoculated cheese had begun to swell slightly and when sampled was found to be already bitter. The bitterness gradually became worse for about two weeks. The inside of the cheese was then quite soft and intensely bitter. The check cheese showed the typical characteristic of a skim milk cheese and no bitter taste developed.

Experiment No. 2. November 21st a second test was made which was a duplicate of the first in every way.

Experiment No. 3. November 27th, 100 pounds of whole milk was divided into two lots and one lot was inoculated with 100 c.c. of a bouillon culture of B. 112 and both lots made up after the sweet curd system. In 48 hours the inoculated lot was slightly bitter and this developed rapidly for about 10 days. The entire inside of the cheese was intensely bitter.

Experiment No. 4. December 1st, 1905, 100 pounds of whole milk was divided into two lots. One lot was inoculated with a bouillon culture of B. 112 and the other lot used as a check. Both lots were made up by the Cheddar system. On December 3rd each cheese was cut in halves

and all paraffined. One-half of the check and one-half of the inoculated cheese was placed in a room where the temperature ranged from 50 to 54 degrees F. for curing, and the other halves were placed in a room kept close to 70 degrees F. December 8th the inoculated cheese showed a bitter taste. Little difference noticeable between those at the cool and the warm curing temperature. December 20th, inoculated cheese decidedly bitter. Slightly more bitter at higher curing temperature. Check sample showed no bitterness in either case.

Experiment No. 5. December 2nd, 1905, Experiment No. 4 was repeated except 2 per cent sour milk starter was added to each portion of milk. Very little difference was observed first seven days in the half kept at 50 and the half at 70 in the development of the bitter taste. The bitter taste, however, was not as pronounced in this experiment as in the previous, possibly on account of the gresence of the starter.

Experiment No. 6. January 4, 1906, 66 pounds of milk inoculated in evening with 50 c. c. bouillon culture of B. 112. At 10:30 following morning 1 per cent pure culture starter added and cheese made on Cheddar system. A slightly bitter taste was observed when cheese were taken from press. This became more pronounced but never so strong as when no starter was used or as in the sweet curd system.

Experiment No. 7. A duplicate in every way of No. 6 with same results.

Prevention of bitter cheese. The practical cheesemaker is more concerned with the question of how this trouble may be avoided than he is with the cause. However, it is first necessary to determine the cause. This having been done the next step is to find where it gains access to the milk in order that it may be kept out or to find some means of preventing its growth.

This important feature has proved very difficult and so far the efforts have not been successful along either line. An extensive investigation has been made in regard to the source of contamination in milk but with no positive results. The organism is found at intervals in the milk of the College Herd and an effort was made to locate the source. The following possible sources were examined.

The foremilk of thirteen cows.
The dust on the body of ten cows.
The dust in air of barn at intervals.
Stagnant water.
Fresh cow manure.

It was found once in stagnant water and that was the only case where the results were not entirely negative. It apparently dit not get into this milk in very large quantities but at intervals the cheese would show its presence.

So far no method of making cheese has been hit upon that will repress thies fermentation. In most dairy processes we depend upon the lactic acid bacteria to repress the other fermentations which would otherwise be injurious. The bitter cheese organism however, grows freely with the acid bacterium and it is quite impossible to check it to any great extent by this means as was found by Experiment No. 5 and 6 already described.

The Wisconsin curd test[1]) probably offers the best safeguard we have at present against bitter cheese.

1) Bull. 67. Wisc. Agricult. Exp. Station.

However, since there is no indication at the time the cheese is made that it will become bitter later the curd test is not generally used until more or less damage has been done. In carrying out the experiments already reported a curd test was made of each lot observing proper precautions to prevent the contamination of the check sample.

The usual procedure was followed in making the curd test and it was found the bitter taste developed in every case so it could be readily distinguished inside of 6 or 8 hours.

Description of B. 112.

In peptone bouillon and on peptone agar appears as short rods .8 to 1 microns long and .6 wide, usually in pairs or clusters. In whey media appears oval, about .7 microns long by .6 broad.

Stains by Gram's method and by ordinary stains.

Peptone bouillon. In 24 hours at 37 degrees C. a heavy precipitate is formed. Precipitate is in small distinct masses that settle to the bottom shortly, forming a heavy sediment after 24 hours growth. In 48 hours the sediment is mostly in the bottom of the tube and the fluid is nearly clear. In 72 hours same condition except fluid is entirely clear. Under microscope these masses that compose the sediment are found to be clusters of bacteria. At 20 degrees C. the growth is the same but slower.

Two per cent, lactose, glucose and sucrose bouillon. Same growht as in peptone bouillon.

Gelatine plates. Colonies appear in 24 hours as small white spots. Under low power appear as yellow colonies wit smooth edges. In 48 hours the colonies appear with diameter of one-fourth m. m. in the bottom of a pit of liquefied gelatine. The liquified zone is about 1 m. m. in diameter. Under low power the colonies appear yellow and covered with short spines. Later the colony reaches a diameter of about 1 m. m. and the pit becomes about 3 m. m. in diameter.

Peptone gelatin. Growth first appears along entire needle track. Within 48 hours liquefaction begins. At first a bubble like cavity appears at the surface and then liquefaction begins along entire length of needle track. The growth settles to the bottom in a white mass. After about 4 days no further change occurs. The liquefied cavity occupies about two-thirds of the diameter of the tube at the surface and tapers slightly occupying about one-half of the diameter at the bottom. The entire tube at no time is entirely liquefied.

Whey gelatin. Growth same as in peptone gelatin.

Peptone agar plates. At 37 degrees C. in 24 hours colonies one-fourth m. m. in diameter are seen. Sharply defined borders. No marked characteristics. Could not be distinguished from the colonies of the common acid bacterium. In 48 hours colonies are only a trifle larger. On surface they spread out slightly in a very thin, colorless growht. Colonies in the media are dark yellow.

Whey agar plates. Growht appears the same as on peptone agar.

Peptone agar slant. At 37 degrees C. a very thin, transparent growth appears in 24 hours. The colonies resemble those of the common acid bacterium and remain distinct. Growth never luxuriant.

Whey gelatin slant. Same growth as peptone agar.

Milk. Coagulated in 24 hours at 37 degrees C. and shows about one-third whey on the surface. In 48 hours tube shows about one-half

to two-thirds straw colored whey with acid curd below. No further change except the bitter taste becomes stronger. The bitter taste is present within 24 hours and increases for at least 10 days or longer until it is intensely bitter.

Acid produced in milk at 37 degrees C. figured as lactic acid:

1 day	.92 %	4 day	1.27 %
2 day	1.09 %	5 day	1.26 %
3 day	1.18 %		

Whey. Neutralized to litmus. The upper portion becomes clear after acid is produced. A slightly bitter taste is gradually developed.

Acidity. At 37 degrees C. the acid produced is as follows, calculated as lactic acid:

Blank	.05 %	3 day	.52 %
1 day	.36 %	4 day	.51 %
2 day	.54 %	5 day	.54 %

Yoghurt, die bulgarische Sauermilch.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg. Direktor: Geheimrat Prof. R. Pfeiffer.]

Von

Dr. Artur Luerssen, und **M. Kühn,**

früher Assistent am Insitut, jetzt Assistent am Städt. Untersuchungsamt von Berlin.

Apotheker, Johannisburg, Ostpr.

Zur Zeit wird in den in Betracht kommenden Fachzeitschriften — auch deutschen — viel über den Yoghurt, die bulgarische Sauermilch, und seine vielversprechende Eigenschaft als wohlschmeckendes und vor allem ausgesprochen gesundheitschützendes und lebenverlängerndes Nahrungsmittel geschrieben. Wie es aber stets der Fall ist mit interessanten neuen Erfahrungen und Theorieen, so auch hier: Die Tagespresse hat sich des dankbaren Themas bemächtigt und es dem Volke aufgetischt und auf der anderen Seite bemühen sich gewisse Geschäftskreise, das frisch-erwachte Interesse auszunutzen und den Yoghurt und sein Ferment unter Namen wie „Maya" oder „Lactobacillin" durch hochtönend gehaltene Anzeigen in den Handel und allgemeinen Gebrauch zu bringen — wie es scheint, auch mit ziemlichem Erfolg.

Wenn nun in Anbetracht dieses Eifers der Fachmann nach den Forschungen und Versuchen, die zur Empfehlung des Yoghurts geführt haben, fragt und sucht, so findet er nur unzureichende Auskunft. Die einschlägigen Untersuchungen und Beobachtungen sind meist von französischen Autoren veröffentlicht worden in für Deutsche schwer zugänglichen Zeitschriften, die zu uns gelangenden Berichte sind recht verworren, die Untersuchungen — um es gleich hervorzuheben — sind zudem unseres Erachtens noch lange nicht genügend, um die weitgehende Empfehlung des Yoghurts zu rechtfertigen. Ein befriedigendes Urteil über den Yoghurt und seinen Wert ist also nicht leicht zu erlangen,

und es besteht daher die Gefahr, daß er — wie so manches andere moderne Präparat — infolge der Reklame nicht bloß vom Laienpublikum, sondern auch von der Aerzteschaft gläubig aufgenommen und in die Praxis eingeführt wird.

Unter diesen Umständen erschien es uns wünschenswert, die bisherigen Erfahrungen über den Yoghurt zusammenzustellen und unsererseits etwaige uns notwendig erscheinende Nachuntersuchungen anzustellen. Die Ergebnisse davon teilen wir nun im folgenden mit:

Die Bereitung und Benutzung der Sauermilch ist uralt, wahrscheinlich wohl so alt wie die Milchtierhaltung selbst — jedenfalls finden wir sie schon in den ältesten Schriften als etwas Althergebrachtes erwähnt. Die Sauermilch ist auch weit verbreitet: bei allen Milch genießenden Völkern treffen wir sie an, bald in der gewöhnlichen Zubereitung der rohen, spontan geronnenen Milch — wie bei uns, bald verändert durch besondere Behandlung und Impfung — wie den „Kefir" und „Kumys" der südrussischen Hirtenvölker, das „Mazun" der Armenier, das „Leben raib" der Aegypter und auch den hier näher zu besprechenden „Yoghurt" der Bulgaren und Türken.

Der Sauermilchgenuß der ausgesprochenen Hirtenvölker hat von jeher ein besonderes Interesse erregt, weil manche die vielgerühmte Gesundheit, Leistungsfähigkeit und Langlebigkeit jener Völker auf diesen Sauermilchgenuß zurückführen zu können glauben — durchaus nicht mit vollem Recht, denn der Unterschied der Lebensführung zwischen Hirten oder Nomaden und ansässigen Kulturmenschen besteht ja nicht nur in dem Genuß von Milch oder Sauermilch, sondern in noch vielem anderen, z. B. Einfluß des Klimas, der Wohnung, der Bevölkerungsdichte, der allgemeinen Ernährung und des Gebrauches der Genußgifte, der Beschäftigung, der Bewegung.

Die soeben angeführte Ansicht wird von Elie Metchnikoff, der vor allen sie in der Gegenwart vertritt und zu popularisieren sucht (1, 2), folgendermaßen erklärt: In dem — eigentlich überflüssigen — Dickdarm des Menschen werden, wie ja bekannt, infolge der Fäulnis und überhaupt der abnormen Gärung des Kotes Gifte gebildet, die vom Körper aufgenommen werden und bei größerer Menge die bekannten Selbstvergiftungserscheinungen hervorrufen. Aber auch in der gewöhnlichen geringen Menge sind diese Bakteriengifte nach Metchnikoff schädlich, ja, sie sind die oder eine der Hauptursachen unseres vorzeitigen Alterns und Sterbens. — Da nun die Milchsäure bekanntermaßen jede Fäulnis, auch die Darmfäulnis, hemmt oder verhindert, so kann man durch Hervorrufung der bakteriellen Milchsäureentwickelung im Dickdarm die Bildung von Fäulnisgiften und dadurch auch Krankheit und Alter hintanhalten, eine Annahme, die durch die Gesundheit und Langlebigkeit der Hirtenvölker als bewiesen erscheint. — Zur Bestätigung dieser ganz kurzen Zusammenfassung seiner wiederholten Erklärungen möge der folgende Schlußabsatz aus Metchnikoffs Aufsatz „La vieillesse" in der Revue scientifique 1904 dienen: „La dégénérescence sénile de notre organisme est tout à fait semblable aux lésions provoquées dans certaines maladies d'origine microbienne. La vieillesse est donc une maladie infectieuse chronique qui se manifeste par une dégénérescence ou un affaiblissement des éléments nobles et par la suractivité des macrophages. Ces modifications dans un sens opposé amènent le déséquilibre des cellules qui constituent notre corps et provoquent une lutte intestine dans notre organisme, qui aboutit au vieillissement précoce et

à la mort prématurée, pas naturelle. — Il est très probable que, dans notre vieillissement, les microbes intestinaux, qui ont installé dans notre corps une fabrique permanente de divers poisons, jouent un rôle des plus importants. Il est donc tout naturel de lutter contre la sénilité précoce en modifiant notre flore intestinale et en renforçant nos élément nobles si sensibles aux poisons microbiens."

Ist zufolge dieser Theorie der Genuß von Sauermilch zu empfehlen, so wird doch noch ein Unterschied bei der Bewertung der verschiedenen Sauermilcharten gemacht. Unsere durch Spontangärung aus roher Milch entstandene Sauermilch ist nicht immer hygienisch einwandsfrei, denn in ihr finden einerseits neben der erwünschten Milchsäuregärung durch die Milchsäurebacillen noch andere, unwillkommene Gärungen statt, die den Geschmack und die Bekömmlichkeit der Sauermilch recht ungünstig verändern können, andererseits können sogar Krankheitskeime darin enthalten sein. Es wird daher mit Recht von verschiedenen Forschern empfohlen, die Milch zur teilweisen Sterilisierung zu kochen und dann mit Reinkultur eines Milchsäurebildners oder einer Mischung verschiedener zu impfen, ja, es wird sogar geraten, Kranken und solchen, die Milch nicht lieben, Reinkulturen von Milchsäurebacillen allein einzugeben, in der Erwartung, daß sich diese im Darm ansiedeln und etwaige Schädlinge hemmen oder vernichten. Als eine solche einwandsfreie, darmdesinfizierende Sauermilch wird nun von Metchnikoff und seinen Mitarbeitern der Yoghurt oder im besonderen der Bacillus bulgaricus empfohlen.

Den Plan, schädliche Darmbakterien durch harmlose zu verdrängen — wenn auch nur bei Darmkrankheiten und nicht im gewöhnlichen Leben — haben übrigens schon andere Forscher gehabt (Escherich, Baginsky, De Jager, Brudzinski). Brudzinski (3) gibt an, bei mehreren Säuglingen mit Proteus-Enteritis durch Eingeben von Bacillus lactis aërogenes in Reinkultur die Proteus-Bacillen aus dem Darm verdrängt und dadurch die Enteritis geheilt zu haben, und empfiehlt daher den Bacillus lactis aërogenes für die Praxis. Seine Versuche, auf die sich auch die übrigen Freunde dieser Therapie stützen, sind aber unseres Erachtens nicht einwandsfrei und zahlreich genug, um den Wert der Therapie für die Praxis ganz zu beweisen — abgesehen von anderen Erwägungen, auf die wir am Schluß der Arbeit zurückkommen werden. Weitere gute Erfolge — und zwar mit dem Bacillus acidi paralactici bei Darmerkrankungen von Säuglingen — veröffentlicht Tissier (6). Es sind auch viele Versuche, die Darmfäulnis durch Verabreichung reiner Milchsäure zu mindern, positiv ausgefallen (Grundzach, Schmitz, Singer).

Auf den Yoghurt, beziehungsweise die Yoghurtbacillen ist man durch die Empfehlungen Dybowskis und Tulbendjans, zweier in der Türkei lebenden Aerzte, aufmerksam geworden (4). Sie hatten mit Yoghurtdiät gute Erfolge bei verschiedenen Krankheitsfällen, Tulbendjan preist zumal die „propriété diurétique fort utile dans les affections cardiaques, dans les hydropisies, dans l'éclampsie de la grossesse".

Der „Yoghurt", französisch „yahourth", türkisch „jugurt" (saure Milch), bulgarisch „kisselo mléko" (saure Milch), ist eine sehr beliebte Speise, zumal der Landbevölkerung des nördlichen Balkans. Er wird mit jeder Milchart hergestellt und zwar so, daß die Milch gekocht, mehr oder weniger — bis zur Hälfte sogar, eingedampft, dann auf etwa 45° C abgekühlt, mit Ferment geimpft und schließlich 9—16 Stunden bei einer

Temperatur um 40° herum der Gärung überlassen wird. Der fertige Yoghurt, der kalt gegessen wird, ist je nach der Stärke der Eindampfung mehr oder weniger fest und von säuerlichem aromatischen Geschmack. Er wird allein oder mit Zutaten, wie Reis, Brot, Fruchtsirup, Zucker, genossen. Das Ferment, das „Podkwassa" oder „Maya" genannt wird, besteht in von früheren Zubereitungen her aufbewahrten, unter Umständen eingetrockneten und zermahlenen Milchresten mit mehreren Bakterienarten; wir wollen jedoch gleich hier vorausschicken, daß verschiedene Forscher nur mit einem der im Yoghurt vorhandenen Bacillen, wahrscheinlich immer dem „Bacillus bulgaricus", gearbeitet haben. Die in den verschiedenen Veröffentlichungen mitgeteilten Eigenschaften des Yoghurt und der Yoghurtbacillen sind auch nicht immer gleich, was damit erklärt werden könnte, daß es nicht bloß verschiedene Arten, sondern auch noch verschiedene Rassen der einzelnen Yoghurtbacillenarten gibt — ebenso wie bei unserem „Milchsäurebacillus".

Die erste genauere bakteriologische Untersuchung des Yoghurt rührt von Grigoroff her (5). Er fand drei spezifische Keime:

Bacillus A. Ein langes, scheinbar unbewegliches, grampositives Stäbchen, oft in Ketten. Wachstum aërob und anaërob, nicht auf Kartoffel und Gelatinenährböden, schlecht auf gewöhnlichen Nährböden, sehr gut auf Zuckernährböden, zumal flüssigen. Temperaturoptimum 45° C, bei Zimmertemperatur kein Wachstum, bei 60° Absterben in einer Stunde. Bildet kein Nitrosoindol, kein Labferment, keine Kasease, dagegen bildet er Alkohol und denitrifiziert. Laktose, Mannit, Dextrose, Maltose, Lävulose werden angegriffen, Rhamnose, Dulcit und Sorbit nicht. Wahrscheinlich ist dieser Bacillus der „Bacillus bulgaricus", mit dem Metchnikoff und die anderen Autoren gearbeitet haben.

Micrococcus B. Grampositive Kokken einzeln, in Diplokokkenform und in Haufen. Wachstum aërob und anaërob in allen Nährböden, weißliche opake Kolonieen. Temperaturoptimum 45° C, bei 60° Absterben in einer Stunde. Bildet kein Lab, dagegen Indol, Alkohol und Kasease, denitrifiziert. Laktose, Dextrose, Lävulose, Mannit, Maltose, Rhamnose und Glycerin werden angegriffen, Dulcit und Sorbit nicht.

Streptobacillus C. Kurze, unbewegliche, grampositive Stäbchen in Ketten. Wachstum aërob und anaërob, nicht auf Kartoffel, Gelatine- und gewöhnlichen Nährböden, gut auf Zuckernährböden. Temperaturoptimum 45° C, Bacillus kann 60° 7 Stunden, 70° 1 Stunde lang ertragen. Bildet kein Lab, Indol, Kasease — dagegen bildet er Alkohol und denitrifiziert. Laktose, Saccharose, Lävulose, Glycerin angegriffen, Maltose, Mannit, Rhamnose, Dulcit, Sorbit nicht.

Die Sauermilch, die mit den einzelnen Bakterienarten zubereitet wird, schmeckt fast gleich wie die mit dem Gemisch von ihnen zubereitete.

Mazé (7) fand im Yoghurt nur 2 Bakterienarten, die er für identisch hält mit den von Rist und Khoury beschriebenen Mikroben des ägyptischen „leben raib", dem „Streptococcus lebeni" und dem „Streptobacillus lebeni"[1]). Für beide ist nach Mazé das Temperaturoptimum 50° C, der Streptobacillus bildet mehr Milchsäure und dazu Spuren von Alkohol, während der Streptococcus keinen Alkohol bildet.

1) Rist und Khoury fanden im leben raib 5 spezifische Mikroben: Bacillus, Streptobacillus, Streptococcus, Saccharomyces und Mykoderma lebeni.

Guerbet (15) hat nach Fuhrmann (16) einmal alle 5 von Rist und Khoury für das leben raib beschriebenen Mikrobenarten gefunden, ein andermal einen Diplococcus und einen Streptobacillus, und hält diesen Streptobacillus, der übrigens nach ihm auch Alkohol bildet, für den echten Yoghurtpilz.

Fuhrmann (16) fand in dem Yoghurtferment „Maya bulgare" der „Société de la Maya bulgare" (unsere Untersuchungen dieses Ferments siehe später!) eine schlanke, zu Ketten vereinigte Stäbchenart und eine sporenbildende Saccharomyces-Art, die er für nicht dem Yoghurt eigentümlich hält, sowie einen „fast kugeligen bis elliptischen Streptobacillus", der grampositiv ist, auf allen üblichen Nährböden mit Glykose, Saccharose oder Laktose und Pepton oder Kasein wächst und nach ihm als der echte Yoghurtbacillus anzusehen ist. Er bildet weder Alkohol noch Aceton, noch vermag er die koagulierte Milch sichtbar zu peptonisieren.

Chemische Untersuchungen von Yoghurt sind in größerem Umfange nur von Bertrand und Weisweiller (8) angestellt worden, jedoch nur mit solchem Yoghurt, der mit dem Bacillus bulgaricus allein hergestellt worden war. Sie fanden folgende Veränderungen der Milch, die aber — wohlgemerkt — erst nach einer bis zu 30 Tagen ausgedehnten Bebrütung in ihrer ganzen, hier angeführten Größe auftraten. Das ausgefällte Kasein wird bis zu etwa $^1/_{10}$ wieder gelöst (nach einem Tage etwa $^1/_{20}$). Das Butterfett wird in sehr geringer Menge verseift. Die Laktose wird fast ganz hydrolisiert zu einem Gemisch von Links- und Rechtsmilchsäure, in dem aber die Rechtsmilchsäure überwiegt. Gesamtsäure bis zu 25 g in 1 l (nach einem Tage etwa 4 g!). Es wird außerdem noch etwas Bernsteinsäure — etwa $^1/_2$ g pro Liter — ungefähr ebensoviel Essigsäure und wahrscheinlich eine Spur von Ameisensäure gebildet. Im Gegensatz dazu tritt aber weder Alkohol noch Aceton auf.

Fouard fand nach Metchnikoff (2) bei „fertigem" Yoghurt (wie lange bebrütet, ebenso mit welchem Bacillus, ist nicht angegeben; wo die Arbeit erschienen ist, konnten wir nicht ermitteln!) ungefähr 38 Proz. des Kaseins und 68 Proz. des Kalkphosphats gelöst, die Menge der Milchsäure betrug pro Liter ungefähr 10 g.

Biologische Versuche sind vor allem von Cohendy (9) an sich selbst und anderen Personen angestellt worden. Er genoß bei regelmäßiger, gemischter Diät 6 Wochen lang Yoghurt, der mit dem Bacillus bulgaricus zubereitet worden war, und gibt an, daß sich der Bacillus nach 3—5 Tagen im Darm angesiedelt hatte und die Menge der im Harn nachweisbaren Aetherschwefelsäuren, die ja gewöhnlich für ein Produkt der Darmfäulnis gehalten werden, gegen früher beträchtlich — um $^2/_3$ — vermindert worden war. Die Faeces erwiesen sich als neutral oder schwach sauer. Die Veränderung der Faeces, das Vorhandensein des Bacillus im Darm und die Verminderung der Aetherschwefelsäuren hielten nach Aufgeben des Yoghurtgenusses noch 12—24 Tage an. Der Nachweis des Bacillus bulgaricus wurde durch Impfung der Faeces in sterilisierte, angesäuerte Milch geführt, eine nicht gerade exakte Methode. — Die gleichen Resultate erhielt Cohendy bei 34 anderen Personen, dagegen konnten die Bacillen bei einer Frau, der die oberen zwei Drittel des Dickdarms reseziert worden waren, nicht akklimatisiert werden, woraufhin Cohendy annimmt, daß der Bacillus bulgaricus sich in den oberen zwei Dritteln des Dickdarms ansiedelt.

Pochon (10) gibt an, daß er die Ergebnisse Cohendys bei einem Versuche an sich selbst bestätigt gefunden habe.

Katschi in Brasso, Siebenbürgen (11), schreibt, daß er bei bulgarischen Hirten, welche regelmäßig Yoghurt genossen, Bacterium coli nur ganz ausnahmsweise mikroskopisch und kulturell nachweisen konnte, „und ebenso konnte ich", fährt er fort, „bei Leuten, die erst auf meine Veranlassung Yoghurt zu sich nahmen, das Zurücktreten von Bacterium coli deutlich beobachten, schon nach den ersten Tagen fanden sich diese Bakterien in geringer Menge im Stuhle vor und wurden von Woche zu Woche sichtlich seltener . . ."

Bélonowsky hat (nach Metchnikoff) (2) mit Mäusen Versuche angestellt. Er fand, daß Mäuse besser gediehen und sich zahlreicher fortpflanzten, wenn sie Reinkulturen vom Bacillus bulgaricus in das sterilisierte Futter erhielten, gegenüber solchen, die gewöhnliches Futter oder noch dazu die „entsprechende" Menge Milchsäure bekamen. Da auch andere Mäuse, die die Kulturen des Bacillus bulgaricus abgetötet erhielten, dieselbe bessere Entwickelung gegenüber den Kontrolltieren zeigten, so nimmt er an, daß noch ein anderes Produkt als die Milchsäure der Bacillen die Darmfäulnis hemmt.

Der Yoghurt ist weiterhin — zumal von französischen Aerzten — auch als Heilmittel versucht worden. Die Beobachtungen Tulbendjans und Dybowskis haben wir schon erwähnt. Von den übrigen klinischen Berichten haben wir leider nicht alle im Original oder ausführlichen Referaten einsehen können, führen hier daher nur an, was wir ermitteln konnten.

Brochet (14) machte Versuche mit „Lactobacilline"-Tabletten (siehe später die Untersuchungen des Lactobacilline!) im Hospital von Haiphong (Indochina) und berichtet begeistert von seinen Heilerfolgen bei allerlei tropischen Darmerkrankungen, auch bei Furunkulose, wobei nach seiner Erfahrung das Lactobacilline der Wein- oder Bierhefe überlegen ist.

Weitere Erfolge mit Yoghurt (unbekannt, welcher Art) hatten Combe (10), Robin, Jeanselme, Rosenthal, Löbel (12). Die Ernährung von Tuberkulösen zeigte sich bei Yoghurtgenuß gebessert im Hospital Boucicaut von Paris. — Martinet (13) berichtet von einer Besserung der Symptome bei Magenkrebs. — Metchnikoff (2) selbst verwendet Sauermilch, die mit Bacillus bulgaricus und Bacillus acidi paralactici geimpft worden ist. Er empfiehlt dieselbe und hat sie von einigen Freunden, die an Darm- und Nierenstörungen litten, zu ihrer großen Zufriedenheit anwenden lassen.

Wie aus dem Vorstehenden zu ersehen ist, sind die Erfahrungen über den Yoghurt — aber auch über die Ernährung mit anderer Sauermilch — durchaus nicht zahlreich und überzeugend genug, um die Ansicht Metchnikoffs, daß sich die Yoghurtbacillen, speziell der Bacillus bulgaricus, im Darm ansiedeln und dort die Darmfäulnis hemmen können, als wissenschaftlich bewiesen anzusehen, was er selbst übrigens auch nicht zu tun scheint.

Wir haben nun, um uns ein Urteil über den Yoghurt und seine Eigenschaften bilden zu können, zunächst selbst Yoghurt und Yoghurtferment verschiedenen Ursprungs untersucht und zwar folgende:

1) Yoghurtpulver „Maya bulgare" der „Société de la Maya bulgare" Paris, rue Popincourt, Fläschchen 3,00 frs. Drei verschiedene Sendungen.

Das Yoghurtpulver besteht in getrockneter und grob pulverisierter Milch.

Probe A: Im Ausstrichpräparat viel Bacillus bulgaricus, viel Körnchenbacillus, viel Diplostreptococcus, wenig grampositive Hefe. (Die Beschreibung der von uns im Yoghurt gefundenen spezifischen Mikroben geben wir später im Zusammenhang!) — In Kulturen mit den später angegebenen besonderen Nährböden und Temperaturen nur Bacillus bulgaricus, Diplostreptococcus und Hefe. Die Hefe vermag Milch nicht zu koagulieren, wir haben sie also außer Betracht gelassen.

Probe B: In Ausstrichpräparaten sehr viel Bacillus bulgaricus, spärlich Körnchenbacillus, viel Diplostreptococcus, viel Hefe. — Ferment ziemlich unwirksam. — In Kulturen nur Bacillus bulgaricus und Hefe (nicht koagulierend).

Probe C (muffig riechend!): In Ausstrichpräparaten sehr viel Bacillus bulgaricus, viel Körnchenbacillus, viel Diplostreptococcus, wenig Hefe. — In Kulturen Bacillus bulgaricus, Körnchenbacillus, Diplostreptococcus, Hefe (wie bei A und B!) und Mucor mit schwarzen Sporangien, der auf Platten schnell alles überwuchert. Außerdem noch in Kulturen in geringer Zahl kleiner Diplostreptococcus, grampositiv, auf gewöhnlichem Agar wachsend, wahrscheinlich auch eine gelegentliche Verunreinigung wie die Hefe und der Mucor.

2) „Yoghurttabletten — Dr. Trainer“ von Oskar Mühlradt, Berlin NW 23. Schachtel mit Tabletten zum Einnehmen (je 1 nach jeder Mahlzeit), für 12 Tage reichend, 3,00 M.

Tabletten aus getrockneter und pulverisierter Milch. — In Ausstrichpräparaten wenig grampositiver Diplobacillus (von der Form des Bacillus acidi lactici). — Kulturen negativ.

3) „Yoghurtferment Maya — Dr. Trainer“ von Oskar Mühlradt, Berlin (siehe No. 2). Originalschachtel mit 24 Portioncylindergläschen zu 3,00 M. Frisch.

Getrocknete, ziemlich fein pulverisierte Milch. — In Ausstrichpräparaten viel Bacillus bulgaricus. — In Kulturen Bacillus bulgaricus.

4) „Lactobacilline“-Tabletten der Gesellschaft „Le Ferment“, Paris, rue Denfert-Rochereau. Tabletten in Cylindergläschen für 14 Tage reichend, 4,00 frs.

Eingetrocknete, pulverisierte und komprimierte Milch. — In Ausstrichpräparaten sporentragende und nichtsporentragende Bacillen (vielleicht darunter Bacillus bulgaricus). — In Kulturen zwei Arten Heubacillus, die die Milch bloß peptonisieren.

5) „Lactobacilline“-Pulver (Fabrik siehe No. 4). Büchse zu 25 g 4,00 frs.

Eingetrocknete, pulverisierte Milch von scharf saurem Geruch. — In Ausstrichpräparaten sehr viel Bacillus bulgaricus, sehr viel grampositiver Diplobacillus, spärlich Hefe. — In Kulturen Bacillus bulgaricus, grampositiver Diplobacillus (von der Fabrik als Bacillus paralacticus bezeichnet, von uns nicht näher geprüft), wenig Oidium lactis, wenige Heubacillen (bloß peptonisierend).

6) „Lactobacilline“-Bouillon (Fabrik s. No. 4). Büchse mit 3 Fläschchen 1,50 frs.

Sauer riechende und reagierende, milchige Flüssigkeit, mikroskopisch:

In der Flüssigkeit Milchfettkügelchen, amorphe Massen (Kasein?) und viel Bakterien. — In Ausstrichen viel Bacillus bulgaricus und viel grampositiver Diplobacillus (wie bei No. 5). — In Kulturen Bacillus bulgaricus und Diplobacillus. In einem Fläschchen noch Oidium lactis.

7) Frischer Yoghurt aus Sofia. Diese Probe wurde uns von Herrn Prof. Prantschoff, Direktor des bakteriologischen Institutes von Sofia, zur Verfügung gestellt, wofür wir ihm auch hier unseren herzlichen Dank aussprechen.

Dicke Milch von stark saurem und hefeartigem Geruch. — In Ausstrichpräparaten Bacillus bulgaricus, Körnchenbacillus, Diplostreptococcus, Hefe. — In Kulturen dieselben Bakterien. Die grampositive Hefe bildet weißglänzende Kolonieen ohne abstechende Merkmale gegenüber anderen Hefearten und kann Milch nicht koagulieren, kann also als zufällige Verunreinigung angesehen werden.

Nach den allerdings unzureichenden Mitteilungen in der Literatur (Grigoroff, Mazé) und unseren Untersuchungen können wir annehmen, daß der echte bulgarische Yoghurt nicht nur vom Bacillus bulgaricus, sondern von einem Gemisch von Bakterien gebildet wird. Als solche sichere Yoghurtbakterien konnten wir nachweisen den Bacillus bulgaricus in Probe 1 A, 1 B, 1 C, 3, 5, 6, 7, den Körnchenbacillus in (1 A, 1 B), 1 C, 7, den Diplostreptococcus in 1 A, (1 B), 1 C, 7. Wir möchten allerdings gleich hier betonen, daß sich — ebenso wie bei unserer Sauermilch — höchstwahrscheinlich eine große Anzahl von Bakterienarten und Varietäten dieser Bakterien an der Bildung von Yoghurt beteiligen wird, wenigstens lassen die voneinander abweichenden chemischen und bakteriologischen Befunde der verschiedenen Untersucher zum Teil diesen Schluß zu.

Das morphologische und biologische Verhalten der von uns isolierten drei Yoghurtbakterien war folgendes:

1. Bacillus bulgaricus.

Ziemlich schlankes, unbewegliches Stäbchen mit wenig abgerundeten Enden, oft in Ketten, manchmal auch in Fäden. Einzelbacillen von verschiedener Länge und Dicke — etwa von der Größe der Milzbrandbacillen. Färbt sich mit allen Anilinfarben, auch nach Gram positiv, jedoch nicht immer ganz, besonders scheinbar abgestorbene Exemplare zeigen große Lücken, die dann auch die Kontrastfarbe wenig annehmen. Bei der Färbung nach Neisser gibt er nie Körnchenfärbung. Die Bacillen sind bei schlechtem Wachstum (z. B. im Traubenzuckeragarstich bei 30—37° C) oft blasig, kolbig verdickt oder krumm, ja, lockig aufgerollt.

Kolonieen auf gutem Nährboden nach 2 Tagen von 2—3 mm Durchmesser, flach, glattrandig, saftig, weißgelblich, ziemlich durchscheinend. Bei durchfallendem Licht dunkelgelb, leicht gekörnt; ältere Kolonieen (1—2 Tage) zeigen in der Mitte feine wellenförmige Schatten, die ziemlich charakteristisch für den Bacillus sind. Tiefe Kolonieen kugelig. In Flüssigkeiten weißliche Flocken.

Wachstum aërob und anaërob, am besten in zuckerhaltigen und flüssigen Nährböden und bei 45—50° C, bei 37° C dürftig und langsam, bei 22° C gar nicht oder ganz spärlich und langsam. Auf Glycerinagar, Nähragar und in Bouillon Wachstum wesentlich geringer als auf Traubenzucker- und Milchzucker- oder Milchagar. Auf Endo-Agar, in

Lackmusmolke und Peptonwasser erhielten wir überhaupt kein Wachstum. Auf Kartoffel fand gutes Wachstum statt, um die weißgelblichen Kolonieen bildete sich ein weißer, von der übrigen grauen Kartoffeloberfläche abstechender Hof. Milch wird koaguliert, bei 37° C (1 Normalöse auf 15 ccm Milch) aber erst am zweiten Tage und sehr locker, bei 22° C war Milch nach 5 Tagen noch nicht koaguliert.

Die Milchgerinnung erfolgte nur durch Säurebildung, es wird bei mehrtägiger Gärung kein Gas gebildet, es findet auch — wenigstens in den ersten 5 Tagen — keine makroskopisch sichtbare Peptonisierung des Kaseins statt. — Die Molke zeigt nach 1-tägiger Gärung deutlich positive Jodoformreaktion — ob infolge Bildung von Alkohol oder verwandten Stoffen, haben wir nicht festzustellen gesucht, da die diesbezüglichen Untersuchungsmethoden bei den spärlichen in Betracht kommenden Mengen zu schwierig und zu unsicher sind. Sollten Alkohol und verwandte Stoffe gebildet werden, so sind es jedenfalls Spuren, die praktisch ohne Belang sind. — Die Säure besteht aus Milchsäure, das polarisierte Licht wird durch die Molke nach rechts gedreht. Bernsteinsäure konnte nach 1-tägiger Gärung nicht nachgewiesen werden.

Die Resistenz der an Seidenfäden angetrockneten Bacillen beträgt etwa $1^1/_2$ Monate.

Mit diesem Bacillus bulgaricus — allein und im Gemisch — haben sicher gearbeitet: Metchnikoff, Mazé, Bertrand und Weisweiller, Cohendy, Pochon, Bélonowsky, Katschi, Brochet; wahrscheinlich auch die Mehrzahl der übrigen Autoren.

2. Körnchenbacillus.

Schlanker und länger als der Bacillus bulgaricus, neigt mehr zu Faden- als zu Kettenbildung. Unbeweglich. Färbt sich mit allen Anilinfarben, auch nach Gram positiv. Bei der Färbung nach Neisser, öfters auch schon mit alkalischem Methylenblau, gibt er Körnchenfärbung, aber nicht ganz regelmäßig; es sind jedoch auch bei schlechtem Wachstum stets ein Drittel bis die Hälfte der Bacillen körnchenhaltig. Auch er wächst auf schlechten Nährböden oft kolbig, gewunden und lockig aufgerollt.

Die Kolonieen sind lockere und lockige, ganz durchscheinende, flache Flocken von $^1/_2$—2 mm Durchmesser, viel feiner und kleiner als Milzbrandkolonieen. In der Tiefe bilden sich Locken, Knäuel und Strähnen. In flüssigen Nährböden bilden sich weißliche Flocken.

Wachstum aërob und anaërob, langsam und dürftig, am besten noch auf zuckerhaltigen Nährböden, zumal in flüssigen, in Milch üppig. Bei 22° C wächst er auch auf den ihm sonst zusagenden Nährböden nicht, bei 37° C gut, bei 45° C fast ebensogut, bei 50° C nicht oder spärlich. Auf Nähragar, Kartoffel, Endo-Agar, in Peptonwasser, Lackmusmolke, Bouillon kein Wachstum.

Milch wird bei 37° C und 40° C fast gleich schnell und stark koaguliert. Die Milchgärung findet nur durch Säurebildung statt, es bildet sich bei ihr kein Gas, es tritt keine makroskopisch sichtbare Peptonisierung des Kaseins auf (auch nicht nach 5 Tagen). — Die Molke zeigt nach 1-tägiger Bebrütung deutliche Jodoformreaktion, Alkohol und verwandte Stoffe könnten aber auch nur in Spuren vorhanden sein.

Die Säure besteht aus Milchsäure; das polarisierte Licht wird nach rechts gedreht. Bernsteinsäure kann nach 1-tägiger Bebrütung nicht nachgewiesen werden.

Die Resistenz des an Seidenfäden angetrockneten Körnchenbacillus ist geringer als 1 Monat, auch im feuchten Zustand ist er sehr hinfällig.

Ob dieser Körnchenbacillus mit einem der von den angegebenen Bacillen identisch ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit feststellen.

3. Diplostreptococcus.

Halbkugelige Diplokokken — etwa von der Größe und Gestalt des Diplococcus catarrhalis — zu zweien oder in kurzen oder langen Ketten. Bei schlechtem Wachstum sind oft in den Ketten bacillenähnliche oder nur eingeschnürte, längere Individuen zu sehen. Unbeweglich. Keine Kapsel. Die Kokken nehmen alle Farben an, nach Gram färben sie sich stark positiv.

Die Kolonieen sind schlecht zu erkennen, da der Coccus nur auf milchhaltigen Nährböden wächst. Sie sind kleine, nach einem Tag bis zu 1 mm breite, später nur wenig größere, flache, glattrandige, gelblichweiße, ziemlich durchscheinende Scheibchen.

Wachstum haben wir mit Sicherheit nur auf milchhaltigen Nährböden beobachten können, in späteren Generationen schienen sie auch zuweilen auf bloßen Zuckernährböden kümmerlich aufzugehen. Sie wachsen nicht bei 22° C, gut bei 37° C und 45° C, geringer bei 50° C.

Die Milchgerinnung erfolgt nur durch Säurebildung — ohne Gas. Nach 2-tägiger Bebrütung wird die fast koagulierte Milch gelb und durchscheinend, aber nicht flüssig. Die ausgefällten Kaseinflocken werden in Milch-Traubenzuckeragarplatten in der Umgebung der Kolonieen aufgelöst, wenn ihrer nicht zu viele sind. Sonst verhält sich der Diplostreptococcus ganz wie der Bacillus bulgaricus und der Körnchenbacillus. — An Seidenfäden angetrocknet, hält er sich etwa 1 Monat. — Der Diplostreptococcus ist wahrscheinlich identisch mit dem von Mazé gefundenen und als Streptococcus lebeni erklärten Coccus.

Die hier aufgeführten und beschriebenen Yoghurtbakterien haben wir in der Königsberger Milch nicht gefunden, ebensowenig in der Luft und dem normalen Kot von Menschen.

Der mit den verschiedenen Bakterien gesondert hergestellte Yoghurt zeigt im wesentlichen dieselben Eigenschaften wie der mit ihrem Gemisch gewonnene. Wurde die Milch nun aufgekocht und ohne Eindampfung abgekühlt, geimpft und bebrütet, so gerann sie sehr locker, bei längerer Bebrütung unter Auspressung von viel Molke, und zeigte nur wenig von dem aromatischen Yoghurtgeschmack.

Der aus eingedickter Milch zubereitete Yoghurt war fest, mit wenig abgepreßter Molke oder ohne dieselbe; er roch und schmeckte sehr angenehm aromatisch, außerdem schmeckte er auch „gehaltvoller", wahrscheinlich infolge der größeren Kasein- und Fettmenge. Kochgeschmack trat nie auf. Der Säuregrad wechselte je nach der Eindickung, Einsaat und Bebrütungsdauer und wurde öfters so stark, daß der Yoghurt nur mit Zucker genossen werden konnte. Die Schnelligkeit der Koagulation hängt natürlich von der Einsaat ab. — Wegen des verschiedenen Ausfalls in der Zusammensetzung haben wir es auch unterlassen, quantitative chemische Untersuchungen des Yoghurts anzustellen — sie haben ja auch wenig praktischen Wert.

Der Yoghurt, den wir zum Genuß stets aus bis zu etwa $^2/_3$ der ursprünglichen Menge eingedampfter Milch bei 45° C zubereiteten, mundete uns und auch anderen, die ihn gelegentlich kosteten, sehr gut,

er bekam uns auch, soweit sich das beurteilen ließ, sehr gut, nur machten wir die Beobachtung, daß stark saurer Yoghurt die Darmperistaltik manchmal unwillkommen beschleunigte, es kam aber nie zu Durchfall. Der Stuhlgang war während des Yoghurtgenusses stets regelmäßig, der Kot selbst weich, jedoch geformt, und alkalisch (nicht wie bei Cohendy neutral oder sauer).

An diesen Aufstellungen ist zu ersehen, daß wir nicht in allem dieselben bakteriologischen und chemischen Befunde gehabt haben wie die anderen Untersucher, z. B. haben wir außer dem Bacillus bulgaricus 2 Bakterienarten gefunden, die sich nicht ohne weiteres mit den sonst beschriebenen Yoghurtbakterien identifizieren lassen. Wir nehmen aber vorläufig an, daß, wie schon oben erwähnt, unser Diplostreptococcus identisch ist mit dem von Mazé angeführten Streptococcus lebeni. Weiter ist vor allem zu erwähnen, daß wir ebenso wie Grigoroff im Gegensatz zu Bertrand und Weisweiller bei Bacillus bulgaricus eine positive Jodoformreaktion erhielten. — Diese Unterschiede könnten stutzig machen, vielleicht sind sie aber zum Teil — wie schon bemerkt — darauf zurückzuführen, daß die verschiedenen Untersucher mit verschiedenen Arten oder Varietäten von Yoghurtbakterien gearbeitet haben.

Akklimatisationsversuche mit den Yoghurtbakterien haben wir nur an uns selbst angestellt, und zwar das erste Mal nur mit Bacillus bulgaricus in Yoghurt — täglich je etwa $^1/_3$ l — und das zweite Mal mit Yoghurt, der mit allen drei von uns gezüchteten Yoghurtbakterien hergestellt worden war; daneben behielten wir unsere gewöhnliche gemischte Kost (bürgerliche Küche) bei.

Die Yoghurtbakterien konnten vor Beginn der Versuche weder in unseren Faeces noch in der Luft unseres Laboratoriums oder unserer Wohnung nachgewiesen werden, wohl aber fanden wir in unseren und anderen Faeces bei 37° und 45° C neben verschiedenen nicht Säure bildenden Bakterien und dem Bacterium coli noch stark milchsäurebildende Diplostreptokokken, die jedoch schon durch ihre kleine Gestalt und ihr Wachstum auf allen Nährböden von den Yoghurt-Diplostreptokokken zu unterscheiden waren. Gelegentlich kam in den Faeces auch ein thermophiler Bacillus vor, der an Gestalt und in Kultur dem Bacillus bulgaricus sehr ähnelte, aber auf gewöhnlichen Nährböden auch gut wuchs und Milch nicht koagulierte. Wir konnten ihn auch in staubiger Zimmerluft nachweisen.

Beim ersten Ansiedelungsversuch — mit Bacillus bulgaricus — zeigte die Versuchsperson K. nach 14-tägigem Yoghurtgenuß alkalische Faeces, in Plattenkultur bei 50° C spärlich Bacillus bulgaricus, dagegen bei 37° C üppig die sonstige Darmflora. 3 Tage nach Aussetzen des Yoghurtgenusses war Bacillus bulgaricus noch spärlich nachweisbar, nach 5 Tagen nicht mehr, von einer Ansiedelung konnte man also nicht sprechen. — Bei L. fand sich nach 17-tägigem Yoghurtgenuß auch nur sehr spärlich Bacillus bulgaricus in den alkalischen Faeces. Bei einer ungefähren Zählung fanden wir einen Bacillus bulgaricus auf 1—3 mg Kot, dagegen (bei 37° C) 12000 andere säurebildende Bakterien auf 1 mg Kot. Fünf Tage nach Aufgeben des Yoghurtgenusses war auch bei L. Bacillus bulgaricus nicht mehr nachweisbar.

Bei dem zweiten Akklimatisationsversuch — mit Yoghurt aus Bacillus bulgaricus, Körnchenbacillus und

Diplostreptococcus — erhielten wir folgende Resultate: Bei beiden nach 16-tägigem Genuß Faeces stark alkalisch. In Plattenkulturen bei 45° C nur ganz spärlich Yoghurtbacillen, am meisten nach Körnchenbacillen, die aber gegenüber der gewöhnlichen, bei 45° C recht spärlich gewachsenen Flora doch noch beinahe verschwanden. 5 Tage nach Aufgabe des Yoghurtgenusses waren bei beiden Faeces alkalisch, Yoghurtbacillen nicht nachweisbar.

Wir haben mit Bedacht die Plattenkultur (mit Traubenzuckeragar, Milchzuckeragar ohne und mit Milchzusatz) zum Nachweis der Yoghurtbacillen angewandt und nicht die Methode Cohendys: Impfung der Fäces in sterilisierte angesäuerte Milch, da uns diese Methode unsicher und irreführend erschien.

Bei dem zweiten Ansiedelungsversuch untersuchten wir auch den Harn auf seinen Gehalt an Aetherschwefelsäuren (durch Fällung von Baryumsulfat), um die Versuche Cohendys nachzuprüfen — konnten die Ergebnisse aber nur bei der einen Versuchsperson verwerten, da sie bei der anderen beträchtlich schwankten (wahrscheinlich infolge gelegentlichen Alkohol- und Tabakgenusses). Bei L. zeigte sich die Tagesmenge der Aetherschwefelsäuren während des Yoghurtgenusses um ungefähr $^1/_4$ vermindert, 6—10 Tage nach Aufgabe des Yoghurtgenusses aber nicht mehr.

Wir halten unsere Nachprüfungen durchaus nicht für genügend, um in der Yoghurtfrage ein endgültiges Urteil abgeben zu können, zumal da wir teilweise den bisherigen Erfahrungen und Anschauungen nicht beipflichten können, möchten also nur vorläufig die im Folgenden wiedergegebenen Schlüsse ziehen:

Unsere biologischen Versuche haben unseres Erachtens keine Bestätigung der Versuche Cohendys, Pochons und Bélonowskys und der Ansicht Metchnikoffs u. A. ergeben: Die Yoghurtbacillen siedelten sich im Darm nicht an und verdrängten natürlich auch nicht die gewöhnlichen Darmbakterien. Nur die Menge der Aetherschwefelsäuren im Harn war deutlich verringert, was aber auch schon durch die Einführung der im Yoghurt präformierten Milchsäure erklärt werden kann (gemäß den Untersuchungen von Hayem, Grundzach, Schmitz, Singer). Uebrigens beweist die Verminderung der Aetherschwefelsäuren im Harn bei Einnahme von Milchsäure unseres Erachtens noch nicht, daß eine wesentliche Desinfektion des Darmes — also Verminderung von Fäulnisprodukten — stattfindet, sie könnte auch durch Beschleunigung von Darmentleerung und in deren Folge verminderte Resorption von Fäulnisprodukten erklärt werden; doch das kommt praktisch wenig in Betracht.

Unsere Mißerfolge mit der Ansiedelung der Yoghurtbakterien sind aber keineswegs unerklärlich, wenn wir die Natur der Yoghurtbakterien beachten. Der Bacillus bulgaricus ist ausgesprochen thermophil — wie auch andere Untersucher berichten — und wächst bei 37—40° C auch auf gewöhnlichen Nährböden nur dürftig, jedenfalls sehr viel schwächer als unsere gewöhnlichen Milchsäurebakterien — auch die des Darms. Es ist also nicht verwunderlich, wenn er bei gemischter Kost gegenüber den anderen Darmbakterien sich nicht behaupten kann, geschweige denn sie zu verdrängen vermag. Der Körnchenbacillus und Diplostreptococcus, die wir gefunden und benutzt haben, wachsen zwar bei 37° auf günstigen Nährböden verhältnismäßig besser als der Bacillus bulgaricus,

doch den Darmbakterien kommen sie nicht gleich, abgesehen davon, daß sie noch an besondere Nährböden gebunden zu sein scheinen. Die Yoghurtbacillen können eben im Darm — wenigstens bei gemischter Kost — nicht die günstigen Lebensbedingungen finden, die ihnen in der Milch geboten werden. Wir sind daher der Meinung, daß sie zur Ansiedelung im Darm ungeeignet sind — es sei denn, daß der Yoghurt fortdauernd und ausschließlich oder wenigtens vorwiegend genossen wird, was sich aber bei unseren Verhältnissen nicht leicht durchführen läßt, also höchstens klinisch in Betracht kommen könnte. — Damit ist natüraber noch nicht ausgeschlossen, daß sich vielleicht andere echte Milchsäurebakterien im Darm ansiedeln lassen!

Aber auch gegen die Absicht, andere, anspruchslosere Milchsäurebildner im Darm anzusiedeln, kann eingewendet werden, ob dies denn für normale Menschen nötig ist und ob diese Bakterien überhaupt fähig sind, allein die Darmfäulnis wesentlich zu verringern, denn das ist trotz der oben referierten Versuche noch nicht erwiesen. Es ist auch teilweise nicht als wahrscheinlich anzunehmen, wie wir später besprechen wollen. Kotstauung und -fäulnis von solchem Grade, daß sie sich durch Vergiftungserscheinungen bemerkbar machen, kommen nur bei krankhaften Veränderungen und falscher Arbeit des Darmes vor, die aber ihrerseits meistens auf Krankheit oder auf eine falsche, durchaus vermeidbare Lebensweise zurückzuführen sind — z. B. übermäßiges Essen, zumal von Fleisch, Mangel an Bewegung, Vergiftung mit Alkohol und Tabak. Daß die bei normaler Darmtätigkeit stattfindende geringe Fäulnis des Kotes Schädigungen verursacht, ist unseres Wissens unbewiesen, allerdings auch nicht völlig ausgeschlossen. Andererseits ist es auch unserer Meinung nach noch nicht bewiesen, daß die Verminderung der gewöhnlichen, symptomatisch nicht zum Ausdruck kommenden Kotfäulnis eine wesentliche Ursache zu der größeren Gesundheit und Lebensdauer der Sauermilch essenden Hirten- und Bauernvölker ist. Wenigstens müssen wir wohl bis dahin für unsere mangelhafte Gesundheit und kurze Lebensdauer andere zudem genau bekannte Schäden verantwortlich machen — wie vor allem: falsche sonstige Ernährung, fortwährende Vergiftung mit den üblichen Genußmitteln, mangelhafte Bewegung, unvernünftiges Vergnügungsleben und anderes — Schäden, denen gegenüber die geringe Kotfäulnis, wie sie für gewöhnlich auftritt, wohl verschwinden dürfte.

Es ist weiterhin auch nicht einzusehen, warum Gesunde sich bemühen sollten, zur Darmdesinfektion Sauermilchbakterien — die Yoghurtbacillen oder andere — in ihrem Darm anzusiedeln, haben sie doch schon genug Milchsäurebildner darin: — lactis aërogenes, coli, Darmstreptokokken — wenn diese Bakterien auch keine „echten" Milchsäurebildner sind, sondern nebenher noch andere Produkte liefern. Wenn aber diese sehr wirksamen Bakterien trotz ihrer ungeheuren Menge den Darminhalt für gewöhnlich nicht sauer erhalten können, so spricht das dafür, daß sie im Darm eben nicht so viel Säure bilden können, als sie es unter anderen Verhältnissen vermögen — wahrscheinlich, weil sie im Dickdarm nicht genügend Rohstoffe zur Säurebildung vorfinden. Können sie aber nicht genug Säure bilden, so werden dies die Sauermilchbakterien auch nicht können, am wenigsten, wenn sie — wie die Yoghurtbacillen — nicht an die Verhältnisse im Darm gewöhnt sind.

Die klinischen Erfolge mit Yoghurt lassen sich ohne Zwang so erklären, daß die Einführung einer sehr leicht verdaulichen und verhältnismäßig reizlosen Speise und der im Yoghurt präformierten Milchsäure

einerseits und das Aufhören der Zufuhr schädlicher oder störender Speisen andererseits schon an sich günstig einwirken, was ja auch schon nach alter Erfahrung die einfache Milchdiät — der Genuß einfacher, roher oder gekochter Milch — vielfach vermag.

Nach diesen Erwägungen und dem Ausfall unserer biologischen Versuche scheint uns die Frage von der Ansiedelung der eingenommenen Milchsäurebakterien — im besonderen der Yoghurtbacillen — der Verdrängung der gewöhnlichen Darmflora und der dadurch erfolgenden Kotfäulnisverminderung durch diese Bakterien nicht genügend geklärt zu sein, um die Verwendung gerade des Yoghurt oder sogar der Yoghurtbacillen in Reinkultur zu diesem Zwecke empfehlen zu können — wohlgemerkt: unter diesen besonderen Gesichtspunkten, denn gegen die Verwendung des Yoghurt oder anderer Reinkultursauermilch aus allgemein diätetischen Gründen ist wohl nichts einzuwenden. Im Gegenteil, mit einer gekochten, eingedampften und durch Bakterienreinkultur gesäuerten oder auch noch in gewissem Sinne vorverdauten Milch wird dem Gesunden und Kranken eine sehr gehaltreiche, leicht verdauliche und die Darmtätigkeit anregende Speise dargeboten, die zudem frei ist von Krankheitskeimen und — die richtige Reinkultur und Behandlung vorausgesetzt — auch frei von schädlichen oder unangenehmen Bakterienprodukten, wie z. B. Buttersäure, Alkohol, Subtilis-Gift. Außerdem hat eine solche Milch auch noch die Vorteile, daß sie eine Abwechslung für den Gaumen bietet und schneller zu bereiten ist als spontan geronnene Milch. Bei dieser Gelegenheit möchten wir nebenher denen, die Reinkultursauermilch verwenden wollen, empfehlen, zur Herstellung selbstweitergezüchtete, frische Reinkulturen zu benutzen an Stelle der käuflichen Fermentpräparate, die sich nach unseren Untersuchungen als unzuverlässig herausgestellt haben und zudem auch ziemlich teuer sind.

Wir fassen unsere Ansicht noch einmal kurz zusammen: Die Verwendung der Reinkultursauermilch als diätetisches Mittel in der Krankenbehandlung und auch im gewöhnlichen Leben kann empfohlen werden, wenn wir auch mit der Annahme spezifischer Heilwirkungen vorsichtig sein wollen! — Im Gegensatz dazu sind aber die Ansichten und Hoffnungen Metchnikoffs und seiner Mitarbeiter, daß die Milchsäurebakterien — im besonderen die Yoghurtbacillen — geeignet sind, sich im Darm anzusiedeln, dort durch Milchsäurebildung das Wachstum der gewöhnlichen und schädlichen Darmbakterien und die Kotfäulnis hintanzuhalten und dadurch schließlich wesentlich zur Verlängerung des Lebens beizutragen, noch nicht genügend gesichert, um praktische Schlüsse daraus ziehen zu können, in Bezug auf den Bacillus bulgaricus sogar unseres Erachtens irrig und aussichtslos. —

Zum Schluß unserer Arbeit erlauben wir uns, unserem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat R. Pfeiffer, für sein förderndes Interesse an ihr unseren herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Metchnikoff, Elie, La viellesse. (Revue scientifique. T. II. 1904.)
2) — —, Essaies optimistes. Paris (A. Maloine). 1907. Daraus „Einige Bemerkungen über Sauermilch.“ Deutsch von L. Schliep. Paris (A. Rémy) 1907.
3) Brudzinski, J., Jahrb. f. Kinderheilk. 1900.
4) Notiz in Bull. de l'académie de médecine. Paris. T. 51. 1904. p. 95.
5) Grigoroff, Stamen, Revue médicale de la Suisse romande. 1905. p. 714.
6) Tissier, Henry, Ann. de l'inst. Pasteur. 1905.
7) Mazé, P., Ann. de l'inst. Pasteur. 1905.

8) Bertrand, Gabriel et Weisweiller, Gustave, Ann. de l'inst. Pasteur. 1906.
9) Cohendy, Compt. rend. de la soc. de biol. 1906.
10) Combe, L'auto-intoxication intestinale. Paris 1906.
11) Katschi, Reichsmedizinalanzeiger. 1906. No. 23.
12) Löbel, Therapie der Gegenwart. März 1907.
13) Martinet, Presse médicale. 1906.
14) Brochet, Sonderdruck, versandt durch die Gesellschaft „Le Ferment", Paris, rue Deufert-Rochereau.
15) Guerbet, Comp. rend. de la soc. de biol. 1906. p. 495.
16) Fuhrmann, Zeitschr. f. Nahrungs- und Genußmittel. 1907. p. 598.

Ueber die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffes und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde.

Zweite Mitteilung über stickstoffassimilierende Clostridien[1].

[Mitteilung aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.]

Von Dr. **Hans Pringsheim.**

Die neuesten Erfolge auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie[2], besonders der von Alfred Koch[3]) geführte Beweis, daß sich mit Hilfe von Zuckerzusatz durch Schaffung günstiger Lebensbedingungen für stickstoffbindende Bakterien im Boden ein direkter Einfluß auf das Pflanzenwachstum erzielen läßt, werden auch diejenigen Gegner der Bedeutung dieses Stickstoffgewinns für den Haushalt der Natur verstummen machen, die bis jetzt ihre Stimme gegen sie erhoben haben.

Zieht man nun aber in Betracht, daß den stickstofflichen Bakterien nur in seltenen Fällen im Boden die ihnen bis jetzt im Laboratorium gebotenen Kohlenstoffenergiequellen zur Verfügung stehen dürften, so wird man einsehen, daß die Vertiefung unserer Kenntnisse über die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen für die Bindung des freien Stickstoffs durch Bakterien bedeutungsvoll ist. Besonders wertvoll wäre es in dieser Hinsicht, den direkten Beweis zu führen, daß Pflanzenreste, wie sie in Gestalt von Wurzeln, Stengeln, Blättern und Stroh in die tieferen Bodenschichten gelangen, diesem Zwecke dienen können[4]. Hier müßte der Versuch gemacht werden, durch die Mitwirkung verschiedener sich im Boden findender Bakterien die Kohlenstoffnahrung für Stickstoffsammler zu erschließen und die Begründung für meine Auffassung zu bringen, daß wir den natürlichen Verhältnissen durch die Verwendung von künstlichen Reinkulturmischungen, deren Wirken wir besser als das der unkontrollierbaren Bodenbakteriengemische zu verfolgen im stande sind, und besser als durch den Gebrauch bloßer Reinkultur näher kommen können.

---

1) Erste Mitteilung. Dieses Centralbl. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 795.
2) Z. B. Wilfarth und Wimmer, Versuchsstation. Bd. LXVII.
3) Koch, Litzendorff, Krull und Alves, Journ. f. Landwirtschaft. 1907. p. 355.
4) Vergl. hierzu auch Koch etc. a. a. O. p. 373.

Um der Ausführung dieses Planes näher zu kommen, erschien es zweckmäßig, zuerst in Resultaten, wie in denen im folgenden angegebenen, die Eignung verschiedener Kohlenstoffquellen zur Stickstoffbindung festzulegen.

Wenn auch schon früher bekannt war, daß stickstoffassimilierende Bakterien in stickstoffhaltiger Nährlösung verschiedene Kohlenhydrate zu vergären im stande sind[1]), so wurde die Bindung des freien Stickstoffs mit anderen Kohlenstoffquellen als Traubenzucker für Clostridien[2]) und Traubenzucker oder Mannit für Azotobacter[3]) noch nicht quantitativ verfolgt. Gerlach und Vogel[4]) geben zwar an, daß sie die von Winogradsky und Beijerinck[5]) mitgeteilte Beobachtung, daß bei Gegenwart von proprionsaurem Kalk lebhafte Stickstoffsammlung stattfindet, bestätigten, sie halten es auch für wahrscheinlich, daß Salze der Milch- und Buttersäure ähnlich wirken, doch finden sich ebenso wie in den Veröffentlichungen dieses Autors, der noch andere Kohlenstoffquellen heranzog, nur das eine Analysenresultat in ihrer Veröffentlichung vor. Bei der Verwendung von Tartraten erhielten Löhnis und Pillai[6]) beim Impfen mit Erde nur sehr geringe Stickstoffbindung. Nach Beijerinck und van Delden soll Rohrzucker nicht durch Azotobacter zersetzt werden, während Koch[7]) angibt, daß Azotobacter Rohrzucker invertiert.

Ueber Verwendbarkeit anderer Kohlenstoffquellen zur Stickstoffbindung als Traubenzucker für Clostridien finden sich nicht einmal Vermutungen in der Literatur. Dies kann zum Teil daher rühren, daß das Arbeiten im Stickstoffstrom überhaupt zu kompliziert war, um zu verschiedenen Versuchen mit Reinkulturen von Clostridium Pasteurianum anzuregen; andererseits mag auch die Tatsache mitgesprochen haben, daß Clostridien nur schwer auf anderen Kohlenstoffquellen als Traubenzucker zum Wachstum zu bringen sind, wenn kein gebundener Stickstoff in der Nährlösung vorhanden ist. Nachdem ich aber gezeigt habe, daß Reinkulturen von Clostridium Americanum[8]) stickstofffreie Nährlösung im offenen Kolben zu vergären im stande sind, lag es nahe, derartige Versuche anzustellen.

Es gelingt nun die Vergärung von Kohlenstoffquellen, die allein schlecht dazu geeignet sind, Clostridien zum Wachstum zu verhelfen, durch zwei verschiedene Kunstgriffe zu erreichen. Einmal kann man den Lösungen eine geringere Menge gebundenen Stickstoffs, z. B. in Form von schwefelsaurem Ammoniak, zusetzen und die Gärung so einleiten. Mißt man den Zusatz des Stickstoffs nun so ab, daß bei dem gewählten Volumen der Nährlösung weniger zugegeben wurde als zur Vergärung der ganzen Energiequelle benötigt wird, so gelingt es, diese völlig aus-

1) Vergl. Pringsheim, H., a. a. O. p. 799. — Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 389.
2) Winogradsky, a. a. O. — Haselhoff u. Bredemann, Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 381.
3) Beijerinck u. van Delden, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3. — Gerlach u. Vogel, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 669; Bd. IX. 1902. p. 817; Bd. X. 1903. p. 636. New Jersey State Report. 1905. p. 254. — Keding, Wissenschaftl. Meeresuntersuchungen. Kiel. Neue Folge. Bd. IX.
4) a. a. O. p. 884.
5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 570.
6) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 88.
7) a. a. O. p. 370.
8) Erste Mitteilung.

zunutzen und Bindung des freien Stickstoffs zu erzwingen. Auf diese Weise konnte ich Stärke als Energiequelle zur Bindung des freien Stickstoffs verwenden[1]). Mannit, der in Gegenwart von reichlich gebundenem Stickstoff leicht zu vergären ist, konnte ich unter solchen Bedingungen, d. h. unter Zusatz ungenügender Mengen von Ammonsulfat, nur einmal zur Vergärung bringen, und beim Milchzucker war auf diese Weise kein Resultat zu erzielen.

Die Leichtigkeit des Anwachsens der Kultur wird auch dadurch nicht begünstigt, daß man aus einer Lösung derselben Zusammensetzung, z. B. Mannit aus gärender Mannitlösung, Stärke aus Stärkekultur, abimpft, was bei der Anpassungsfähigkeit niederer Organismen in Betracht gezogen werden mußte.

In solchen Fällen greift man zum zweiten Kunstgriff. Er besteht darin, daß man zu den Lösungen der schwer zu vergärenden Kohlenstoffquelle eine geringe Menge Traubenzucker setzt; dann verhilft dieser den Bakterien zu anfänglichem Wachstum, und man erreicht die ganze Ausnutzung der zu prüfenden Kohlenstoffquelle. Setzt man nur geringe Traubenzuckermengen zu, so ist die durch sie veranlaßte Stickstoffbindung niedrig anzusetzen. Auf diesem Wege nützte ich Mannit und Milchzucker als Energiequellen für Clostridium Americanum aus. Dagegen konnte ich mit Glycerin noch keine positiven Erfolge erzielen.

Gelingt es unter den geschilderten Bedingungen auch noch nicht, eine Gärung bei geringer Impfmenge einzuleiten, so kommt man doch durch Beimpfen mit 1 ccm einer in kräftiger Gärung befindlichen Kultur immer zum Ziele.

Durch beide Verfahren, den Zusatz der geringen Menge gebundenen Stickstoffs sowohl wie den des Traubenzuckers, werden Bedingungen nachgeahmt, wie sie im Boden herrschen müssen, für den man weder völlige Abwesenheit von gebundenem Stickstoff noch Einheitlichkeit der Energiequelle voraussetzen kann.

Die Resultate der nach der Kjeldahlschen Methode ausgeführten Analysen sind in den folgenden Tabellen vereint. Beim Rohr- und Milchzucker wurde durch das Ausbleiben der Reduktion von Fehlingscher Lösung nach der Hydratation des Disaccharids mit Salzsäure und nachheriger Neutralisation dieser festgestellt, daß aller Zucker vergoren war. Für den Mannit steht uns zu diesem Zwecke kein einfacher Prüfungsweg zur Verfügung; doch ist das Nichteinsetzen des Schäumens bei der Verbrennung im Moment, wo das letzte Wasser verdampft, ein genügender Anhaltspunkt, daß kein Mannit mehr vorhanden war. Ein Teil der Stärke hatte sich durch Zusammenballen dem Angriff der Bakterien entzogen. Es mußte hier daher von der Berechnung der Stickstoffbindung auf die Einheit der Energiequelle, die in den vorgenannten Fällen hinzugefügt wurde, abgesehen werden.

Die Angabe der Vergärungszeit unterblieb, weil einzelne Kolben über die Gärperiode hinaus bis zur endlichen Analyse gestanden hatten. Ueber eine wie lange Zeit sich eine Vergärung durch Clostridium Americanum aber hinausziehen kann, wird aus dem 4 Proz. Rohrzucker enthaltenden Versuch ersichtlich, der am 13. Juni 1906 zu gären anfing und am 9. Juli 1907, also nach mehr als einem Jahre, noch Zuckerreaktion zeigte[2]).

1) Koch etc. a. a. O. p. 272 fand Stärke im Boden wirksam.

2) Vergl. hierzu die Angabe von Koch (a. a. O. p. 362), daß größere Dextrosemengen im Boden vergleichsweise viel langsamer als kleine verschwinden.

Der Versuch, die Stickstoffbindung durch Zugabe von Eisensalz zu erhöhen, verdankt seine Anregung den positiven Resultaten, welche auf diese Weise mit Azotobacter vinelandii[2]) und Azotobacter Beijerincki[1]) erzielt wurden. Die mit Rohrzucker in Gegenwart von Ferrisulfat gewonnenen Versuchsresultate wurden des bequemeren Vergleichs wegen den ohne Eisensalzgegenwart erzielten angegliedert. Man könnte nun annehmen, daß die durch den kohlensauren Kalk veranlaßte Ausfällung des Eisens die Schuld an seiner Unwirksamkeit in den Versuchen mit Clostridium Americanum trage, wenn nicht Koch[3]) gezeigt hätte, daß auch im Boden, der gleichfalls Kalk enthielt, Begünstigung der Stickstoffbindung durch Eisensalze zu erzielen war.

So ist wohl der Schluß gestattet, daß Clostridium Americanum durch die Anwesenheit von Eisensalzen in seiner Intensität der Stickstoffbindung keine Begünstigung, sondern eher eine Abschwächung erfährt.

Tabelle I.

Rohrzucker.

500 ccm Lösung		N assimiliert	Auf 1 g vergorenen Zucker assimiliert
0,5 Proz. Zucker	geimpft 4. März gärt 7. März analys. 28. Sept.	0,0104 g N	0,0042 g N
1 „ „	geimpft 10. Nov. gärt 28. Nov. analys. 16. Febr.	0,0083 „ „	
1 „ „	geimpft 13. März analys. 25. Sept.	0,0081 „ „	0,0014 „ „
1 „ „	geimpft 13. März analys. 28. Sept.	0,0042 „ „	
2 „ „	geimpft 16. Nov. gärt 28. Nov. analys. 16. Febr.	0,0286 „ „	0,0028 „ „
4 „ „	geimpft 7. Nov. 1906 gärt 13. Juni noch Fehling-Reduktion 2. März 1907 analys. 27. Sept.	0,0359 „ „	0,0018 „ „
1 Proz. Zucker 5 mg Ferrisulfat	geimpft 13. März analys. 25. Sept.	0,0064 „ „	0,0013 „ „
1 Proz. Zucker 5 mg Ferrisulfat	geimpft 13. März analys. 28. Sept.	0,0067 „ „	
2 Proz. Zucker 5 mg Ferrisulfat	geimpft 13. März analys. 25. Sept.	0,0107 „ „	0,0011 „ „

1) New Jersey State Report. 1903. p. 276.
2) New Jersey State Report. 1905. p. 269.
3) a. a. O. p. 383. Reihe 29.

Tabelle II.
Stärke.

500 ccm Lösung		N assimiliert	Auf 1 g vergorenen Zucker assimiliert
5 g Stärke mit 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 19. Juni gärt 26. Juni analys. 16. Febr.	0,0118 g N 0,0004 „ „ 0,0114 g N	(0,0023 g N)
10 g Stärke mit 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 19. Juni gärt 4. Juli analys. 16. Febr.	0,0174 g N 0,0004 „ „ 0,0170 g N	(0,0017 „ „)

Tabelle III.
Milchzucker.

500 ccm Lösung		N assimiliert	Auf 1 g Zucker assimiliert
1 Proz. Zucker 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 4. März gärt 6. März analys. 29. Sept.	0,0204 g N 0,0004 „ „ 0,0200 g N	0,0037 g N
1 Proz. Zucker 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 4. März gärt 8. März analys. 29. Sept.	0,0169 g N 0,0004 „ „ 0,0165 g N	
2 Proz. Zucker 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 4. März analys. 29. Sept.	0,0368 g N 0,0004 „ „ 0,0364 g N	0,0031 g N
2 Proz. Zucker 0,0004 g N als $(HN_4)_2SO_4$	geimpft 4. März gärt 10. März analys. 29. Sept.	0,0261 g N 0,0004 „ „ 0,0257 g N	
2 Proz. Zucker 0,0004 g N als $(NH_4)_2SO_4$	geimpft 4. März gärt 6. März analys. 29. Sept.	0,0322 g N 0,0004 „ „ 0,0318 g N	

Tabelle IV.
Mannit.

500 ccm Lösung		N assimiliert	Auf 1 g Mannit assimiliert
1 Proz. Mannit	unbeimpft	0,0015 g N	
1 Proz. Mannit 10 ccm 4-proz. Dextroselösung	geimpft 4. März analys. 29. Sept.	0,0182 „ „ 0,0015 „ „ 0,0167 g N	0,0032 g N
1 Proz. Mannit 10 ccm Dextroselösung	geimpft 4. März gärt 6. März analys. 29. Sept.	0,0166 „ „ 0,0015 „ „ 0,0151 g N	
2 Proz. Mannit 10 ccm Dextroselösung	geimpft 4. März gärt 6. März analys. 29. Sept.	0,0185 „ „ 0,0015 „ „ 0,0170 g N	0,0017 g N
2 Proz. Mannit 10 ccm Dextroselösung	geimpft 16. Nov. 1906 analys. 29. Sept. 1907	0,0188 „ „ 0,0015 „ „ 0,0173 g N	

Das Hauptergebnis der in den vorstehenden Tabellen zusammengefaßten Resultate ist, daß außer dem Traubenzucker auch Rohrzucker, Stärke, Milchzucker und Mannit zur Bindung des Luftstickstoffs durch Clostridium Americanum als Energiequelle geeignet sind. Weiterhin läßt sich allgemein sagen, daß die Ausnutzung dieser Kohlenstoffquellen zur Stickstoffbindung hinter der des Traubenzuckers nicht zurücksteht; sie ist eher eine bessere.

Die früher mit Traubenzucker gemachte Beobachtung, daß die Ausnutzung der Energiequelle zur Stickstoffbindung von ihrer Konzentration beeinflußt wird, wurde auch mit den neuen Kohlenstoffquellen bestätigt. Innerhalb der von mir geprüften Grenzen zeigte sich, daß die Ausnutzung des Energiematerials für den genannten Zweck bei geringerer Konzentration eine bessere ist, als bei höherer. Die Unregelmäßigkeit, welche in meinen Versuchen bei 1 Proz. Rohrzucker auftritt, ist dabei allerdings fürs erste unaufgeklärt. Ich nehme an, daß ein Irrtum in der Zusammensetzung der Nährlösung die Schuld trägt. Die Gesetzmäßigkeit steht in direkter Beziehung zu den von Koch[1]) beim Zuckerguß auf Boden gemachten Beobachtungen, „bei denen eine Zuckergabe von 2 Proz. die beste Ausnutzung in Form von Stickstoffbindung ergab, wenn auch bis zu einer Gabe von 8 Proz. Zucker die absolut gebundene Stickstoffmenge aufstieg".

Nach dem Gesagten erscheint es deshalb wünschenswert zu prüfen, ob die Stickstoffbindung durch Clostridien in noch verdünnteren Lösungen nicht den durch Azotobacter für die Einheit des Energiematerials gewonnenen gleichkommen kann. Mit der genannten Ausnahme tritt die Gesetzmäßigkeit beim Rohrzucker, dann beim Traubenzucker, noch ausgeprägter beim Mannit, weniger deutlich beim Milchzucker und schließlich auch bei Stärke hervor, wenn man bei ihr annimmt, daß die unvergorene Menge in beiden Versuchen etwa die gleiche war. Die folgende Zusammenstellung wird die Uebersicht in dieser Beziehung erleichtern.

Tabelle V.
Ausnutzung von Energiequellen in verschiedener Konzentration in Milligramm pro 1 g vergorenen Materials.

	Traubenzucker	Rohrzucker	Stärke	Milchzucker	Mannit
0,25 Proz.	3,7				
0,5 „	3,2	4,2			
1 „	2,85	(1,4)?	2,3	3,7	3,2
2 „	2,0	2,8	1,7	3,1	1,7
4 „	1,2	1,8			

Die Vergasung des Energiematerials in Beziehung zur Stickstoffbindung.

Wie schon früher hervorgehoben[2]), ist die Ausnutzung des Energiematerials durch Clostridium Americanum eine bessere als durch Pasteurianum[3]). Dies findet eine Erklärung in der Tatsache, welche

1) a. a. O. p. 365.
2) a. a. O. p. 800.
3) Daß hieran die Mitausnutzung des Luftsauerstoffes als Energiequelle bei meinem an höhere Sauerstoffspannung als Pasterianum angepaßten Clostridium schuld hat, wie das Charlotte Ternetz, Pringsheims Jahrbücher, Bd. XLIV.

im folgenden bewiesen wird, daß Clostridium Americanum eine größere Menge des gebotenen Zuckers vergast, d. h. in ein weniger Energie als fettsaure Salze stapelndes Gemisch von Wasserstoff und Kohlensäure überführt, als das Clostridium Pasteurianum zu tun im stande ist.

500 ccm einer 2-proz. Traubenzuckerlösung wurden in Gegenwart von kohlensaurem Kalk durch Reinkultur vergoren und im Filtrat der Gärflüssigkeit der in Lösung gegangene Kalk bestimmt. Dazu wurden von dem auf 1 l aufgefüllten Filtrat 100 ccm entnommen und mit Salzsäure zur Trockne eingedämpft, um die Fettsäuren zu vertreiben. Die in der Lösung der Trockne durch Fällen mit Ammonoxalat gefundene Kalkmenge betrug nach dem Glühen 0,1048 g CaO. Berechnet man aus der für die ganze Gärflüssigkeit gefundenen Menge von 1,048 g CaO die Buttersäurebildung, so ergibt sich 3,29 g Buttersäure. Es waren aus 10 g Traubenzucker etwa 3,3 g Buttersäure gebildet worden. Nimmt man an, daß der Kalk teilweise durch Essigsäure in Lösung gebracht worden ist, so würde die Bildung der Säuren ein noch geringerer Prozentsatz als 33 Proz., des für Buttersäure in toto berechneten Wertes, sein. Vergleicht man damit die von Winogradsky für Clostridium Pasteurianum gemachte Angabe von 42—45 Proz. Säurebildung, so sieht man, daß mein Bakterium eine höhere Vergasung und daher auch eine bessere Ausnutzung des Energiematerials als Clostridium Pasteurianum erreichen muß.

Die durch diese 500 ccm 2-proz. Traubenzuckerlösung gebundene Stickstoffmenge, berechnet aus der Verbrennung der restierenden 900 ccm Filtrat und des Niederschlags, war 0,0156 g N. Die Stickstoffbindung war hier also 1,56 mg pro 1 g vergorenen Zuckers, die von Winogradsky[1]), gleichfalls bei der Vergärung einer 2-proz. Traubenzuckerlösung gefundene 1,22 mg. Clostridium Americanum vergast 67 Proz. des Zuckers, Clostridium Pasteurianum etwa 55 Proz. Es ist bemerkenswert, daß der Quotient aus Stickstoffbindung und vergastem Energiematerial bei beiden Clostridien sich ziemlich gleich, nämlich wie 23 : 21 verhält.

Ueber die Verbreitung stickstoffbindender Clostridien.

Schon früher[2]) schloß ich aus der Uebereinstimmung[3]) von Clostridium Americanum mit der Grassberger und Schattenfrohschen[4]) Klasse Granulobacter mobilis non liquefaciens, die nach den Angaben dieser Autoren weit verbreitet ist, auch auf eine weite Ausbreitung von Clostridien, welche nach der von mir angegebenen Methode[5]) wieder zur Stickstoffbindung gebracht werden können[6]) und als deren ersten Vertreter ich das Clostridium Americanum beschrieben habe. Solche Clostridien lassen sich nach meiner elektiven

1907. p. 389 will, soll damit nicht gesagt sein. Der Sauerstoff ist doch kein Energiematerial; er kann nur die Ausnutzung solcher vermitteln.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 53.

2) a. a. O. p. 796.

3) Pringsheim, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 300.

4) Archiv f. Hygiene, Bd. XXXVII. 1900. p. 55 und Bd. XLIII. 1902. p. 219.

5) a. a. O. p. 795.

6) Zu beachten ist hier, daß auch Azotobacter seine Fähigkeit zur Stickstoffbindung infolge der Züchtung im Laboratorium verlieren kann, worauf Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1905. p. 584 aufmerksam macht.

Kulturmethode, nämlich dem Impfen steriler Kartoffel, die mit Wasser bedeckt ist, aus Boden, vor allem aber auch aus Samen gewinnen.

Auf dem geschilderten Wege wurden bis jetzt drei Clostridienkulturen isoliert, durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 80° von vegetativen Zellen befreit und nach dem Auskeimen der überlebenden Sporen durch langsamen Entzug des gebundenen Stickstoffs zur Assimilation des Luftstickstoffs gezwungen. Die erste Kultur stammt von hiesigen Lupinen, die zweite von Datteln, die also subtropischen Ursprungs sein dürfte, die dritte aus einer Erde, welche den hohen Regionen der Dolomiten entstammt, die ich wegen der eigenartigen Zusammensetzung des dortigen Gesteines mit Absicht ausgewählt hatte.

Die vorgereinigten Kulturen, welche noch durch andere mikroskopisch nicht unterscheidbare Arten von sporenbildenden Bakterien verunreinigt gewesen sein können, stehen in ihrem Stickstoffbindevermögen, wie Tabelle VI zeigt, nicht hinter Clostridium Americanum zurück, besonders wenn man berücksichtigt, daß die Kulturen aus Datteln und von Dolomitenerde aus noch unbekannten Gründen zu keiner völligen Vergärung des Zuckers kamen.

Tabelle VI.
Traubenzucker.

500 ccm-Lösung			N assimiliert
Lupinen Kultur	2 Proz. Zucker ganz vergoren	geimpft 19. Mai 1906 gärt 22. Mai 1906 analys. 25. Sept. 1907	I. 0,0294 g N II. 0,0299 g N
Datteln Kultur	2 Proz. Zucker Zucker zum Teil unvergoren	geimpft 20. März gärt 24. März analys. 25. Sept.	0,0252 g N
Dolomiten Erde Kultur	2 Proz. Zucker Zucker zum Teil unvergoren	geimpft 20. Febr. gärt 22. Febr. analys. 24. Sept.	0,0202 g N

Es wird mein Streben sein, die vorgereinigten und auf ihr Stickstoffbindevermögen geprüften Clostridienkulturen in definitiver Reinkultur zu gewinnen, wozu ich mich jetzt des ansprechenden Verfahrens von Kürsteiner[1]) bedienen will. Diese, und wie ich hoffe, noch andere Kulturen aus Erden verschiedenen Ursprungs und von verschiedenen Samen, vor allem auch eine Kultur aus Erde von Alaska[2]), welche bei niederer Temperatur zu arbeiten scheint, werde ich dann auf ihre Fähigkeit, den Luftstickstoff zu binden, prüfen und zu erforschen suchen, ob die Optima der Temperaturen solcher Clostridien sich den Ursprungsorten anpassen, und ob man eine Form finden kann, die in ihrer Energieausnutzung die bekannten Formen übertrifft.

Bis jetzt habe ich auf dem geschilderten Wege noch keine Buttersäurebakterienkultur isoliert, der ich die Fähigkeit zur Stickstoffbindung nicht wieder anerziehen konnte. Zieht man nun in Betracht, daß meine Art der Isolierung solcher Bakterien sich nicht im wesentlichen von dem von Beijernick[3]) angegebenen Rezept zur Einrichtung einer

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 1.
2) Diese Erde verdankte ich der Güte des Herrn Dr. P. S. Smith, U. S. Geological Survey, wofür ich ihm auch hier danke.
3) Kochs Jahresbericht. Bd. VII. 1896. p. 230.

normalen Buttersäuregärung, dem Impfen einer siedenden Kulturflüssigkeit von 5 g Glykose und 5 g feingepulvertem Fibrin in 100 g Aq. dest. mit Gartenerde, unterscheidet, so drängt sich der Gedanke auf, daß allen so isolierten Buttersäurebakterienstämmen die Fähigkeit zur Stickstoffbindung zukommt. Die von Winogradsky zuerst an einer Form, welche die Fähigkeit zur Sticktoffbindung schwer verliert, gemachte Beobachtung wird so wesentlich verallgemeinert und in ihrer Bedeutung für die Bodenbakteriologie gestärkt.

Berlin, den 9. November 1907.

Ein Denitrifikationsversuch.

[Aus der Agrikulturchemischen Versuchsstation Berlin. Direktor: Prof. Dr. O. Lemmermann.]

Von Dr. **Hugo Fischer**, Charlottenburg.

Nach der herrschenden Meinung soll der Denitrifikationsvorgang, wenn er sich stets in dem gleichen, durch Nahrungszufuhr immer wieder ergänzten Medium abspielt, ziemlich bald zum Stillstand kommen. Es gelang, nachzuweisen, daß diese Meinung keineswegs unbedingt richtig ist.

Zuvörderst einige Bemerkungen über die für solche Versuche gewöhnlich angewendete „Giltay-Lösung“: Es fiel an einigen Stellen der Literatur (so z. B. gerade in zwei vielgelesenen und vielbenutzten Werken) auf, daß die Angabe für die Zusammensetzung der Lösung eine sehr wesentliche Lücke aufweist; die dazu gehörige Zitronensäure muß nämlich, was an jenen Stellen übersehen wurde, nach der Originalvorschrift neutralisiert werden! Eigens zur Entscheidung der Frage, ob letzteres nötig sei, angestellte Versuche zeigten, daß bei freier Zitronensäure nach einer Impfung mit Boden nur eine sehr unbedeutende und langsame Denitrifikation stattfindet, weit schwächer als in neutraler Lösung. — Einfacher übrigens, als nach Vorschrift auf 1 Liter 5 g Zitronensäure zu geben und diese mittelst Soda zu neutralisieren, ist es, fertiges zitronensaures Natron zu verwenden, in der äquivalenten Menge von 8,5 g im Liter; damit wurden stets gute Resultate erhalten.

Nicht notwendig ist aber, wenn man mit Boden oder Dünger, also mit Bakteriengemischen infiziert, die Hinzufügung von Asparagin; irgend welche Unterschiede in der Geschwindigkeit der Denitrifikation konnten nicht nachgewiesen werden, wenn Lösungen mit und ohne Asparagin verglichen wurden. Dagegen gibt es denitrifizierende Bakterien, die in Reinkultur mit Nitratstickstoff allein nicht gedeihen, vielmehr organischer Stickstoffnahrung bedürfen und darum nur in der amidhaltigen Lösung Salpeter zerstören; in solchen Fällen ist also das Asparagin nötig.

Der Versuch, der nun im folgenden geschildert werden soll, ging ursprünglich auf die Frage hinaus, ob das von anderen Seiten beobachtete Aufhören der Denitrifikation (vergleiche oben) darauf zurückzuführen sei, daß die Tätigkeit der Bakterien autantagonistische Stoffe, Antikörper, erzeuge, die man in der Praxis zur Verhinderung von Stick-

stoffverlusten, sofern solche durch denitrifizierende Bakterien zu befürchten wären, verwerten könnte.

Am 6. November 1906 wurden in einem Kolben 500 ccm Giltay-Lösung angesetzt, enthaltend 1 g Kalisalpeter, 1 g Dextrose, 4,25 g Natriumcitrat und Mineralsalze; beimpft wurde mit einer Messerspitze frischen Bodens. Der Kolben befand sich während der ganzen Versuchsdauer in einem auf 34 ^{0} C erhaltenen Thermostaten.

Es wurden in der Folgezeit, immer nachdem die Prüfung mit Diphenylamin und Schwefelsäure negativ ausgefallen war, am 12. und 22. November, am 5. und 18. Dezember jedesmal 1 g Salpeter, 1 g Dextrose, 1 g freie Zitronensäure beigefügt; letztere wurde gewählt, weil anzunehmen war, daß durch die Salpeterzerstörung ein Ueberschuß an Kalicarbonat sich geltend mache. Danach schien aber die Denitrifikation ihr Ende erreicht zu haben, denn bis zum 16. Januar 1907 erhielt sich die Nitratreaktion. Nun wurde die Lösung auf ihre Reaktion geprüft und stark sauer befunden, worin also (vergleiche oben) der Anlaß zu sehen war, daß Salpeterzerstörung nicht mehr stattgefunden hatte. (Die Säure war augenscheinlich größtenteils Gärungsprodukt, denn es machte sich ein sehr starker Buttersäuregeruch bemerklich.) Deshalb wurde mittelst reichlicher Dosis von Calcium- und Magnesiumcarbonat die Säure abgestumpft, und nun ging die Denitrifikation ungestört weiter. Am 19. Januar war die Nitratreaktion verschwunden, es wurden jetzt hinzugefügt: 1 g Kalisalpeter, 1 g Dextrose, 1,7 g Natriumcitrat. Am 21. Januar war bereits alles denitrifiziert; der Kolben erhielt von neuem 2 g Salpeter, 1 g Dextrose, 1,7 g Natriumcitrat; am 28. Januar 1 g Salpeter, 1 g Dextrose, 1,7 g Natriumcitrat. Von jetzt an wurde jedesmal von jeder der drei Substanzen das doppelte Quantum gegeben, je 2 g Salpeter, 2 g Dextrose und 3,4 g zitronensaures Natron, so am 1., 4., 8., 12., 22. Februar, 2., 9., 18., 26. März, 6. 18., 30. April; als am 11. Mai wiederum völlige Denitrifikation festgestellt werden konnte, wurde der Versuch abgebrochen. Es waren im ganzen 33 g Kalisalpeter verbraucht, dazu 33,5 g Zitronensäure und 32 g Traubenzucker; der Vorgang der Denitrifikation war in der gleichen Lösung ein halbes Jahr lang ständig weiter gegangen, nur brauchte es etwas längere Zeit als im Anfang (sc. nach stattgefundener Neutralisation), bis die Salpeterreaktion wiederum verschwunden war. Diese relative Verzögerung dürfte sich durch die allmählich zu ganz abnormer Höhe gesteigerte Konzentration der in der Flüssigkeit gelösten Stoffe erklären.

Von einer Erzeugung von spezifischen Antikörpern kann nach dieser Beobachtung wohl kaum die Rede sein; die entstandene Buttersäure ist wohl der Tätigkeit anaërobischer, nicht aber der denitrifizierenden Bakterien zuzuschreiben. Der auch hier anfangs einige Wochen nach Beginn des Versuches beobachtete Stillstand in der Denitrifikation war lediglich durch die gebildete freie Säure verursacht.

Beitrag zur Kenntnis des Denitrifikationsprozesses.

Von Dr. **Hugo Kühl**, Magdeburg.

Die Jensensche Abhandlung in dem Handbuch für Technische Mykologie von Prof. Lafar veranlaßte mich zur Untersuchung des Denitrifikationsprozesses, und zwar wandte ich mich folgenden Fragen zu.

1) Welchen Einfluß hat das anaërobe Wachstum der Denitrifikationsbakterien auf den Verlauf der Denitrifikation?

2) Wie verhalten sich Reinkulturen von Denitrifikationsbakterien zu Rohkulturen in ihrer Wirkung?

3) Wie erklärt sich die außerordentlich denitrifizierende Wirkung des Meeresschlammes?

Als Nährlösung für die Denitrifikationsbakterien wurde die nach Jensen dargestellte 0,2 Proz. Natronsalpeter haltende Lösung verwendet, und zwar impfte ich, wo nicht anders mitgeteilt, 100 ccm Jensen-Lösung im Erlenmeyer-Kolben.

Um festzustellen, von welcher Bedeutung das anaërobe Wachstum der Bakterien für die Denitrifikation ist, stellte ich folgende Versuche an:

1. Versuchsreihe.

Die Jensensche Nährlösung wurde im Erlenmeyer-Kolben mit Provenceröl überschichtet und dann mit einer Kultur geimpft. Zur Kontrolle wurde jedesmal ein Kolben ohne Oelverschluß in gleicher Weise geimpft. Der Prozeß wurde als beendet angesehen, wenn mit Diphenylamin kein Nitrat und mit Jodkaliumstärkekleister kein Nitrit in der Nährlösung nachweisbar war. Durch die Ueberschichtung mit Oel sollte der Luftzutritt verhütet werden.

a) Geimpft wurde zuerst mit einer schäumenden Reinkultur. In der mit Oel überschichteten Nitratlösung war die Denitrifikation in 2 Fällen nach 13 Tagen beendet, beim Kontrollversuch dagegen erst nach 17 Tagen.

b) Geimpft wurde mit einer fast reinen, stark denitrifizierenden Kultur. Der Prozeß war im Falle der Oelüberschichtung schon nach 2 Tagen beendet, im Kontrollversuch dagegen erst nach 5 Tagen.

c) Geimpft wurde mit einer Reinkultur, die durch zweimaliges Abimpfen kreisförmiger, glattrandiger, grauer Kolonieen erhalten war. Nach 7 Tagen war die mit Oel abgeschlossene Jensen-Lösung denitrifiziert, die Kontrolllösung dagegen erst nach 10 Tagen.

d) Impfmaterial bildete eine Reinkultur, die Jensen-Lösung war mit einer 2-proz. Strohabkochung dargestellt. Ohne Oelverschluß war die Denitrifikation nach 7 Tagen, mit Oelverschluß nach 3 Tagen beendet.

e) Der Versuch entspricht dem vorhergehenden, nur wurde mit einer anderen Kultur geimpft. Ohne Oelverschluß war die Nährlösung nach 5 Tagen, mit Oelverschluß nach 3 Tagen denitrifiziert.

Da sich in der Literatur die Angabe findet, daß Provanceröl als solches die Entwickelung der Bakterien begünstigt, so wiederholte ich die Versuche in der Weise, daß ich gleichzeitig Nitratlösungen impfte, die mit Paraffinöl überschichtet waren.

Es ergab sich, daß die Stärke der Denitrifikation ganz unabhängig war von dem gegen die Luft abschließenden Mittel.

Geimpft wurde mit der im Versuche e) angewandten Kultur. Die durch Oel- resp. Paraffinölverschluß gegen Luftzutritt geschützte Nährlösung war jedesmal nach 3 Tagen denitrifiziert, dagegen war der Prozeß in der nicht abgeschlossenen Lösung erst nach 6 Tagen, 10 Stunden in einem Falle, in einem anderen nach 7 Tagen beendet.

2. Versuchsreihe.

Die mit je 100 ccm Jensenscher Nitratlösung gefüllten Kolben wurden untereinander und dann mit einem Stickstoffgasometer verbunden. Sobald alle Luft durch das Gas ausgetrieben war, impfte ich die Lösungen mit 0,05 ccm einer Reinkultur und beließ dann in der Stickstoffatmosphäre die Denitrifikationskulturen. Wieder ergab sich, daß unter anaëroben Bedingungen die Denitrifikation schneller vor sich geht. Nach 3 Tagen war jedesmal die Denitrifikation vollständig, während unter normalen Verhältnissen einmal 6 Tage 10 Stunden, einmal 7 Tage erforderlich waren. Dieser Versuch wurde ebenfalls mit der unter e) — 1. Versuchsreihe — angeführten Kultur ausgeführt.

3. Versuchsreihe.

Auf Wunsch von Herrn Prof. A. Koch führte ich eine Reihe von Versuchen aus, um festzustellen, ob Nährlösungen in hoher Schicht schneller denitrifiziert werden als andere. Ich wählte Glasröhren mit $^1/_2$ cm Oeffnung, schmolz sie an einem Ende zu und füllte sie mit Jensenscher Nitratlösung bis zu einer Höhe von 3 cm, 5 cm, 10 cm und 15 cm. Impfungen führte ich aus mit Rohkulturen und Reinkulturen.

a) Rohkulturen, durch Felderdeimpfung gewonnen.

1) In 3 cm hoher Schicht war die Nitratlösung in 2 Versuchen nach 6 Tagen denitrifiziert;

in 5 cm hoher Schicht einmal nach 6 Tagen, einmal nach 5 Tagen 10 Stunden;

in 10 cm hoher Schicht nach 4 Tagen 10 Stunden, bezw. nach 5 Tagen;

in 15 cm hoher Schicht endlich jedesmal nach 3 Tagen.

2) In 3 cm hoher Schicht war die Denitrifikation nach 6 Tagen, bezw. 5 Tagen 10 Stunden beendet.

in 5 cm hoher Schicht nach 5 Tagen 10 Stunden;

in 10 cm hoher Schicht nach 5 Tagen;

in 15 cm hoher Schicht nach 3 Tagen.

b) Reinkulturen, hergestellt durch Impfung von Nitratlösung mit Pferdemist, wiederholtes Ueberimpfen, Plattengießen und Abimpfen einheitlicher Kolonieen. Die Bakterien bilden kurze, bewegliche Stäbchen. Zur Impfung wurden jedesmal 0,05 ccm einer Reinkultur verwandt. Es ergab sich auch bei diesen Versuchen, daß in 15 cm hoher Schicht die Denitrifikation bedeutend rascher vor sich geht, so wurde z. B. die Nitratlösung in 3 ccm hoher Schicht nach 8 Tagen, in 15 cm hoher Schicht dagegen völlig in 4 Tagen denitrifiziert.

4. Versuchsreihe.

Da aus allen Versuchen übereinstimmend hervorging, daß unter anaëroben Bedingungen die Denitrifikation rascher vor sich geht, führte ich zur Ergänzung noch folgenden Versuch aus. Kleine Erlenmeyer-

Kolben wurden mit je 100 ccm Jensen-Lösung sterilisiert, und zwar wurde in einem Falle die Nährlösung mit Provenceröl überschichtet, in einem anderen mit Paraffinöl, in einem dritten wurde der Kolben mit einem Stickstoffgasometer verbunden. Endlich wurden auch noch einseitig zugeschmolzene Glasröhrchen in 15 cm hoher Schicht mit der Nährlösung beschickt. Alle Nährlösungen wurden in gleicher Weise mit einer Reinkultur geimpft. Es ergab sich, daß in allen Fällen die Denitrifikation zu gleicher Zeit beendet war.

Mit Sicherheit dürfen wir daher annehmen, daß die Ueberschichtung mit Olivenöl die Denitrifikation deshalb begünstigt, weil die wirksamen Bakterien anaërob wachsen können, nicht weil das Oel oder Bestandteile desselben das Wachstum der Bakterien fördern. In dem Falle müßte die Denitrifikation bei Abschluß der Nitratlösung mit Oel schneller vor sich gehen, als bei Abschluß mit Paraffin, oder in Höhenschicht, wo die obere Flüssigkeit gleichsam als Sperrlösung dient.

Es ist bekannt, daß Rohkulturen im allgemeinen viel kräftiger denitrifizieren als Reinkulturen. Impft man Jensensche Nitratlösung mit Erde, Jauche oder Pferdemist, so tritt sehr bald eine starke Denitrifikation ein. Impft man von dieser Rohkultur über auf andere Nährlösung, so schwächt sich der Prozeß ab. Reinkulturen arbeiten meistens bedeutend langsamer als Rohkulturen. Setzt man der Jensen-Lösung etwas steriles Stroh, oder eine Abkochung von Stroh zu, so geht die Denitrifikation wesentlich rascher vor sich. Aus dieser oft gemachten Beobachtung geht mit Sicherheit hervor, daß irgendwelche Stoffe des Strohs, nach Angabe die Pentosane, eine Beschleunigung der Reaktion herbeiführen. Interesant ist eine andere Beobachtung, die ich machen konnte, nämlich daß Bacillus liquefaciens auf die Denitrifikation hemmend einwirkt.

Nachfolgend seien kurz einige Versuche angeführt, welche das Gesagte demonstrieren.

Zur Impfung wurde jedesmal 0,1 ccm einer Rohkultur verwandt, die durch Impfen einer Nährlösung mit Felderde, bezw. Pferdemist, bezw. Jauche erhalten war. Zugesetzt wurden den Nährlösungen 2 Proz. Stroh, gleichzeitig natürlich Kontrollversuche angesetzt.

1) Es wurden 100 ccm der Jensensche Lösung mit Felderdekultur geimpft mit Zusatz von Stroh und ohne diesen. Im ersten Fall war die Denitrifikation nach 4, im zweiten nach 7 Tagen beendet.

2) Das gleiche Resultat wurde erhalten bei Impfung mit Pferdemistkultur.

3) Bei Impfung mit Jauchekultur war die Denitrifikation der mit Stroh versetzten Jensen-Lösung nach 4 Tagen beendet, im anderen Falle erst nach 8 Tagen. Benutzte ich eine Abkochung von Stroh, so erhielt ich dasselbe Resultat.

Eine mit sterilisierter Strohabkochung versetzte Jensensche Lösung war nach 3 Tagen salpeterfrei, während dieselbe Menge der Nährlösung ohne Zusatz erst nach 7 Tagen denitrifiziert war.

Wie schon erwähnt, beobachtete ich, daß durch Bacillus liquefaciens eine Hemmung der Denitrifikation eintritt. Dieser Umstand veranlaßte mich zu folgendem Versuch.

100 ccm Nitratlösung wurden einmal mit einer Kultur denitrifizierender Bakterien geimpft, einmal gleichzeitig noch mit einer Reinkultur von Bacillus liquefaciens. Die Wirkung war eine frappante. Die mit Bacillus liquefaciens geimpfte Lösung war nach 12 Tagen frei

von Salpeter, während bei einfacher Impfung mit Denitrifikationskultur schon nach 5 Tagen kein Nitrat und Nitrit nachweisbar war.

Von ganz außerordentlichem Interesse waren für mich Impfversuche, die ich mit Watterde, also Meeresschlamm ausführte. Ich fand einmal, daß der Meeresschlamm ganz hervorragend denitrifizierend wirkt, sodann daß sich diese Energie auch noch auf Kulturen erstreckt, die durch öfteres Ueberimpfen der Ausgangskultur auf Jensensche Lösung erhalten waren.

Mit Stroh versetzte Nitratlösung war schon nach 2 Tagen und 4 Stunden frei von Nitrat und Nitrit. Mit Strohabkochung versetzte Nährlösung gab keine Reaktion mehr nach 2 Tagen und 10 Stunden.

Unter normalen Verhältnissen war die Lösung nach 3 Tagen denitrifiziert, während unter anaëroben Bedingungen die Denitrifikation schon nach 2 Tagen beendet war.

Durch mehrere Versuche konnte ich dann nachweisen, was ich schon früher feststellte, daß die Denitrifikation unter anaëroben Bedingungen wesentlich rascher von statten geht, wie auch aus den obigen Angaben schon ersichtlich ist.

Ich meine die Erscheinung der besonders starken Denitrifikation darauf zurückführen zu müssen, daß die Wattbakterien infolge ihrer natürlichen Anaërobiose weniger degeneriert, in ihrer Wirkung geschwächt sind.

Erwähnen will ich am Schlusse meines Referates, daß die Wattproben aus dem Dollartschlick stammen und in einer Tiefe bis zu 20 cm unter der Oberfläche entnommen waren.

Ueber pathogene Fleckenbildungen auf einjährigen Trieben der Weinrebe (Vitis vinifera).

[Arbeiten der pflanzenpathologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Von Dr. **Emil Molz.**

Mit 2 Tafeln und 13 Abbildungen im Text.

Die vergleichende Betrachtung verschiedenartiger Fleckenbildungen auf einjährigen Trieben von Vitis vinifera läßt uns häufig Erscheinungsformen erkennen, die zueinander große Aehnlichkeit haben, aber doch in ihrer Entstehungsursache stark voneinander abweichen und auch vom Standpunkte des praktischen Weinbauers ungleiche Wertung verdienen. Da die Flecken bei ihrer Entstehung und Ausbreitung oft größere Gewebepartieen in Mitleidenschaft ziehen und deren Struktur beeinflussen, so müssen wir bei unseren Betrachtungen neben der ätiologischen auch die histologische Seite mitberücksichtigen, zumal in zweifelhaften Fällen erst der mikroskopische Einblick in die morphologische Gestaltung des erkrankten Teiles ein gültiges Urteil zuläßt. In weitaus den meisten der hier in Betracht kommenden Fälle bietet das äußere Bild des Fleckens jedoch hinreichend typische Merkmale, die es uns ermöglichen, schon makroskopisch die Veranlassung zu präzisieren, was für den mit dem Mikroskop weniger vertrauten Praktiker von größter Wichtigkeit ist.

Wenn wir im Spätsommer die Rebentriebe genauer betrachten, so

nehmen wir auf ihrer Epidermis eine große Zahl kleiner dunkler Punkte wahr (Fig. 1), die zumeist auf kleinen Erhabenheiten liegen. Die Verteilung dieser kleinen, mit einem schwärzlichen Punkte gekrönten Höckerchen über die Oberfläche des Rebtriebes ist innerhalb der einzelnen Internodien meist eine ziemlich regelmäßige, manchmal sind sie auf einer Seite des Triebes zahlreicher als auf der anderen. Auf den mit den primären Bastbündeln alternierenden Längsstreifen der Rinde trifft man nur wenige.

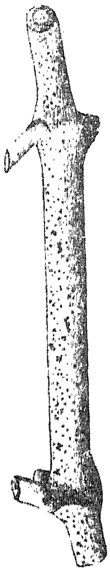
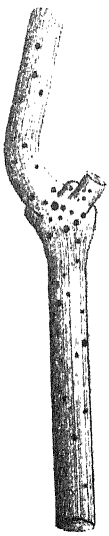
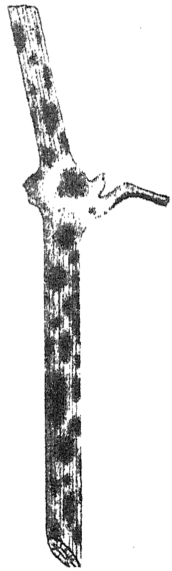
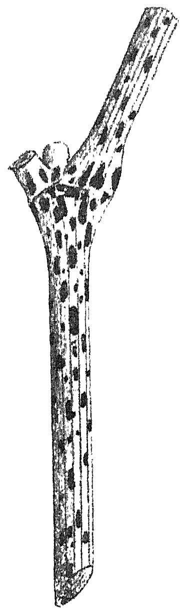





Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 1. Nekrose der Rindenwarzen.
Fig. 2. Fleckenbildung unterhalb von Perldrüsen.
Fig. 3. Durch Uncinula necator hervorgerufene Flecken.
Fig. 4. Bordeaux-Flecken.

Diese Gebilde, die ich als Rindenwarzen bezeichne, sind mehr oder weniger rund und von abgestumpft kegelförmiger Gestalt. Ihre Größenverhältnisse schwanken nach allen Dimensionen sehr. Die größten von mir beobachteten hatten einen Durchmesser parallel der Triebachse von 500—600 μ, die kleinsten von 50—200 μ, in radialer Messung, mit der Trieboberfläche als Basallinie, eine Höhe von 50—100—200 μ, ohne daß damit unbedingte Maximal-, bezw. Minimalgrenzen angegeben seien.

Man ist leicht geneigt, diese Rindenwarzen als die Anfänge von Lenticellen anzusehen, und diese Ansicht erhält sogar durch die Aufhellung der entwickelungsgeschichtlichen Entstehung dieser Gebilde eine gewisse Stütze. Bei der mikroskopischen Flächenansicht (Fig. 5) läßt sich nämlich leicht feststellen, daß sie sich nur unterhalb von Spaltöffnungen bilden, wie das ja auch für die Lenticellen schon im Jahre 1836 durch Unger (Flora, 1836) ermittelt wurde. Auf medianen Querschnitten (Fig. 6) sieht man auf dem Scheitelpunkt des Höckers eine zusammenhängende Partie abgestorbener und stark durch einen dunkelrotbraunen Farbstoff tingierter Zellen, die meist durch einen ziemlich

breiten, 5—8 Zellreihen fassenden Korkgürtel von dem Rindenparenchym abgeschnürt sind.

Nach Trécul (Compt. rend. T. LXXIII) „verdanken die Lenticellen ihren Ursprung einer unter dem abgestorbenen Gewebe der Atemhöhle der Spaltöffnungen stattfindenden Korkbildung, die zum Schutz der tieferliegenden Gewebe gegen atmosphärische Einflüsse dient". Setzen wir den oben geschilderten anatomischen Befund unter das Kriterium dieser Definition, dann ist die Parallele ohne Zweifel sehr offenkundig. Doch haben spätere Forschungen über Lenticellen, namentlich diejenigen von Stahl (Bot. Ztg. 1873) weitere charakteristische Merkmale dieser Organe erkennen lassen, zu denen vor allen die Entstehung einer Verjüngungsschicht und abgerundeter, in lockerem Zusammenhang stehender Füllzellen gehört. Da diese Merkmale den von mir untersuchten Rindenwarzen der Rebe fehlen, so können wir diese nicht dem Begriff der Lenticellen einreihen. Uebrigens weist auch schon Stahl (l. c.) auf das Fehlen der Lenticellen bei einer Anzahl klimmender und windender Sträucher, unter denen auch Vitis vinifera angeführt wird, hin. Doch sind diese Verhältnisse nicht bei allen Vitis-Arten gleich. So sagt O. L. Müller (Beitr. z. Kenntn. d. Entw. u. Verbr. d. Lent., 1877):

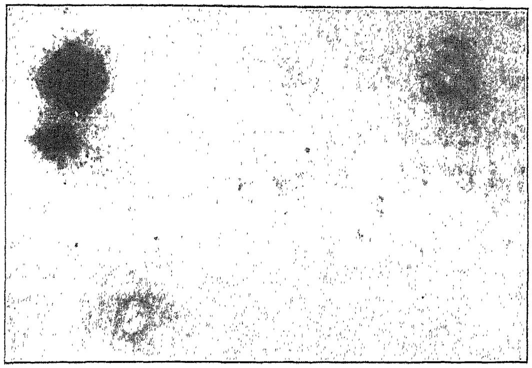


Fig. 5. Rindenwarzen in Flächenansicht.

„Während unserer einheimischen Vitis vinifera mit allen ihren Abarten die Lenticellen fehlen, und bloß kleine grüne Fleckchen die Stellen charakterisieren, an denen sich Spaltöffnungen befinden, besitzt eine amerikanische Ampelidee, Vitis vulpina, wenigstens an diesjährigen Trieben, schön ausgebildete Lenticellen. Die kleinen, länglich elliptischen Lenticellen sind gleichmäßig über die ganze Oberfläche diesjähriger Triebe verteilt. Zuerst als rötliche Flecke sichtbar, erscheinen sie später weiß, von einem rötlichen Saum umgrenzt und etwas erhaben; sie entstehen

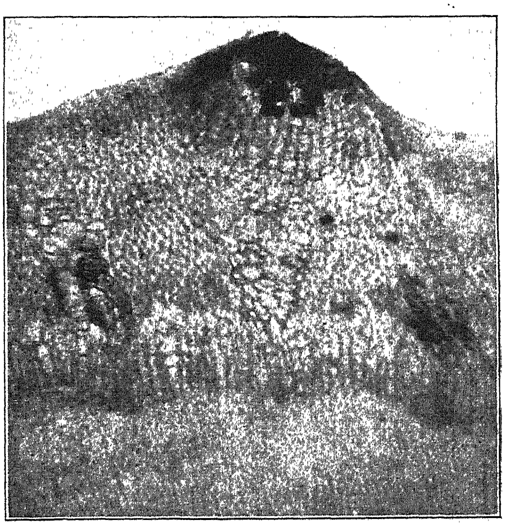


Fig. 6. Rindenwarze im Querschnitt.

unter je einer frühzeitig absterbenden Spaltöffnung. Die erste Anlage, sowie auch die Weiterbildung der Lenticelle läuft auf denselben Typus hinaus, wie bei vielen anderen Pflanzen, doch ist die Ausbildung der Lenticelle insofern eine begrenzte, als es nie zu bedeutender Füllzellenbildung kommt, indem kaum eine Verjüngungsschicht zur vollständigen Entwickelung gelangt. Bemerkenswert sind die stark entwickelten Bastbündel, welche in bestimmter Entfernung von der Peripherie des Triebes in gleichen Abständen voneinander gelagert sind. Innerhalb dieses mächtig entwickelten Pflanzenteils wird das Periderm schon im Laufe der ersten Vegetationsperiode angelegt, worauf in der zweiten Vegetationsperiode die gesamte außerhalb des Periderms gelegene Partie samt den Resten vorjähriger Lenticellen abgestoßen wird. An älteren Trieben gelang es mir nie, Lenticellen zu finden."

Die physiologische Funktion der Lenticellen liegt in der Regulierung der Durchlüftungs- und Transpirationsverhältnisse der peridermbesitzenden Zweige der Pflanzen. Die Ausschaltung dieser Organe bei Vitis vinifera erfordert einen Ersatz, der in den von Klebahn (Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 1884) bei Vitis riparia, vulpina etc. gefundenen „Markstrahl-Rindenporen" zu suchen ist. Sehr leicht lassen sich auch bei Vitis vinifera diese Luftkanäle von den Markstrahlen ausgehend und das Periderm durchsetzend mit Hilfe der von dem obengenannten Forscher angewandten Methode (Schneiden in Glycerin und Einlegen in Gummi arabicum + Glycerin) nachweisen. Die außerhalb des Periderms liegenden Gewebepartieen vertrocknen sehr bald, bekommen Risse und Sprünge und stellen so in einfacher Weise die Luftkommunikation mit den Rindenporen her.

Es will mir scheinen, als ob bei der Rebe durch das Absterben der Schließzellen und des angrenzenden Gewebes der physiologische Zweck der Transpirationsverminderung erreicht werde, eine Ansicht, die sich auf den nachstehenden Versuch stützt: Ein 5 cm langer Teil eines Rebtriebes, der noch keine Peridermschicht aufwies, wurde an beiden Schnittflächen mit Siegellack verschlossen und darauf in ein cylindrisches Gefäß, das mit warmem, ausgekochtem Wasser gefüllt war, eingesteckt. Nachdem die an der Rebe anhaftenden Luftblasen vermittelst eines kleinen Pinsels entfernt waren und zur Kontrolle ein in gleicher Weise präpariertes Teilstück eines Zweiges von Ampelopsis quinquefolia in das Gefäß eingeführt und ebenso mit dem Pinsel behandelt war, wurde dasselbe verschlossen. Darauf wurden die Zweigstücke mit der Lupe beobachtet. An den Lenticellen des wilden Weines bildeten sich bald größere Luftblasen, während bei der Weinrebe nirgends an den schwarzen Höckerchen Luft austrat, nur an den noch farblich unveränderten Spaltöffnungen traten winzig kleine Luftperlchen auf.

Die Rindenwarzen unserer Weinrebe haben ein gutes Analogon in jenen grünen Höckerchen, die sich auf den Blattstielen der Begonie finden. Nur tragen die letzteren Gebilde Gruppen von Spaltöffnungen, während sich auf den Wärzchen der Rebe nur je 1 Stoma auf ihrem Gipfelpunkte vorfindet. Es liegen bei der Rebe nun aber keineswegs alle Spaltöffnungen auf solchen Emergenzen, immerhin befindet sich ein sehr großer Teil der Stomata auf kleinen und sehr kleinen Erhabenheiten.

Soviel ich beobachten konnte, sterben die hochgelegenen Spaltöffnungen mit ihren angrenzenden Zellen zuerst ab, während die flachgelagerten länger, oft sogar während der ganzen Vegetationsperiode

lebensfähig bleiben. Offenbar hängt das mit den schlechteren Ernährungsverhältnissen der mehr zentrifugal gelagerten Zellgruppen ab. Das Absterben und die Bräunung der Zellen beginnt entweder mit den Schließzellen, oder aber es werden zuerst die an die Atemhöhle angrenzenden Zellpartieen ergriffen. Das Absterben einiger Zellen zieht den Tod der angrenzenden Zellen allmählich nach sich, und es breitet sich auch die Bräunung des Gewebes in der Fläche und in der Tiefe immer mehr aus, bis der Pflanzenkörper durch Bildung einer Schutzkorkschicht das Weiterschreiten des nekrotischen Prozesses verhindert. Je wuchskräftiger und je besser ernährt ein Teil ist, um so rascher und vollkommener wird der Schutzkork entstehen. Schlecht ernährte Triebe, die nicht imstande sind, im Herbst eine hinreichend starke Peridermschicht zu bilden, erzeugen auch keinen Schutzkork, und die Flecken auf den Rindenwarzen werden deshalb hier besonders groß: sie erstrecken sich auf die ganze Erhabenheit und greifen sogar oft noch etwas in das Flächengewebe über.

Daß diese kleinen Fleckchen aber im Spätherbst auf unreifem Holz so besonders zahlreich auftreten, hat noch eine andere Bewandtnis. Das Absterben der Schließzellen und des umliegenden Gewebes erfolgt vornehmlich gegen Herbst hin (August, September). In dieser Zeit entsteht aber bei gut ernährtem Rebholz auch der Peridermgürtel, der an der Innengrenze der primären Bastbündel angelegt wird. Das außerhalb des Peridermrings liegende Gewebe vertrocknet sehr bald und nimmt die bekannte hellrot-braune Farbe des „ausgereiften“ Rebholzes an. Je frühzeitiger und rascher der Peridermring gebildet wird, um so geringer ist die Zahl der bereits abgestorbenen Schließzellen, um so weniger ausgebreitet die Fleckenbildung in ihrem Umkreis. Bei Trieben, die infolge ihrer Unreife überhaupt keinen Peridermring zur Ausbildung bringen, wird der Absterbeprozeß nach und nach alle Schließzellen ergreifen. Die Zahl und die Flächenausdehnung der anfänglich winzig kleinen Fleckchen wird sich immer mehr und mehr vergrößern, sie werden dann zum Teil ineinanderfließen und so dem Rebholz in Verbindung mit den später noch auftretenden Schwärzepilzen ein mehr oder weniger geschwärztes Aussehen verleihen. Sehr in die Augen fallend war diese Erscheinung in dem Peronosporajahr 1906.

Die Ausbildung des Peridermgürtels beginnt bei den Reben zuerst am unteren Teil der Triebe, und es ist daher unter Zugrundelegung der obigen Erörterungen ohne weiteres einleuchtend, daß sich am Basalteil der Rebe die in Rede stehenden geschwärzten Pustelchen meist in viel geringerer Zahl als am Spitzenteil finden, der infolge seines vielfältig schlechten Ausreifens darin die oben erwähnte Beschaffenheit der unreifen Triebe zeigt. *Und so dürfen wir wohl die Zahl und die Größe jener schwärzlichen Höckerchen und Fleckchen, die sich im Umkreis der abgestorbenen Schließzellen bilden, als einen namentlich für den Praktiker wertvollen Indikator für den Grad der Holzreife der Rebe ansehen. Je zahlreicher diese sind, je größer ihr Umfang ist, desto weniger wird im allgemeinen das Holz ausgereift sein.*

Dieser Satz hat jedoch nur Gültigkeit für die primären Jahrestriebe. Auf alle Nachkömmlinge, so auch die Geiztriebe ist er nicht anwendbar, da deren Absterben durch Frühfröste meist vor dem Erscheinen dieser Fleckennekrose herbeigeführt wird. Diese Triebe kommen aber übrigens auch für den Schnitt oder die Holzgewinnung nicht in Betracht.

Da die Zahl und Ausdehnung der in Rede stehenden Fleckchen, wie wir oben gesehen haben, zum Teil abhängig ist von der Zeit der Anlage des Peridermgürtels, so bestehen zwischen letzterem und diesen korrelative Beziehungen, die nur dann gestört werden, wenn eine mangelhafte Holzreife durch einen ausnehmend warmen und sonnigen Spätherbst bei Erhaltung der Blätter noch nachträglich durch Anlage eines Periderms und Ablagerung genügender Reservestoffe einen Ausgleich findet.

Wir finden die eben beschriebenen Rindenwärzchen übrigens nicht allein auf den Trieben der Rebe, sondern es ließ sich ihr Vorkommen auch auf den Ranken, den Blattstielen, Blattnerven, Traubenkämmen und Beeren feststellen.

Außer diesen nekrotischen Rindenwärzchen beobachteten wir zuweilen an den Reben ähnliche Gebilde, die sich von den genannten äußerlich nur durch ihren größeren Umfang und die etwas flache Gestaltung der Erhabenheit unterscheiden (Fig. 2). Ihr Flächendurchmesser beträgt etwa $^1/_4$—1 mm, ihre Gestalt ist rund und ihre Farbe schwarz. Ihre Zahl ist meist gering und ihre Verteilung sehr unregelmäßig. In der Nähe und besonders unterhalb des Internodialknotens sind sie zahlreicher, während man auf dem mittleren Teil des Internodiums nur wenige antrifft. Im Querschnitt lassen diese Emergenzen unter dem Mikroskop einen den vorbeschriebenen Rindenwarzen sehr ähnlichen anatomischen Aufbau erkennen. Auch hier finden wir eine erhaben liegende größere Partie abgestorbener, dunkelbraun gefärbter Zellen, die meist durch einen breiten Korkgürtel von dem gesunden Gewebe abgeschnürt sind. Auf dem Gipfelpunkt des abgestorbenen Teils treffen wir zuweilen eine Gruppe mehr radial gelagerter Zellen, die in dem zur Darstellung gebrachten Schnitt (Taf. I, Fig. 3) herausgefallen sind.

Diese erhaben liegenden Flecken sind, wie ich feststellen konnte, entwickelungsgeschichtlich auf die sogenannten Perldrüsen der Reben zurückzuführen, die ihrerseits wiederum nur an Spaltöffnungen Entstehung nehmen. Diese Drüsen bilden sich in der Weise, daß sich die unterhalb einer Spaltöffnung liegenden Zellen strecken, dadurch die Epidermis heben und sich dann nach allen Dimensionen beträchtlich vergrößern. So entstehen jene glashellen bis 1 mm großen Gebilde, die wir im Frühjahr und auch während des Sommers häufig an unseren Reben finden, und die von den Winzern meist für Insekteneier gehalten werden. Auf ihrem Scheitel tragen sie die emporgehobene Spaltöffnung. Am zahlreichsten finden sich die Perldrüsen unterhalb des Knotens an den Insertionsstellen des Blattstieles. Offenbar hängt das mit dem größeren Saftreichtum dieser Region zusammen.

Die tieferen Ursachen der Entstehung dieser Drüsenhaare sind noch nicht aufgehellt, doch weiß man, daß Mangel an Sonnenschein sowie feuchte Luft ihrer Bildung förderlich sind. Auch dürfte ein feuchter Standort, vielleicht mehr noch wie die Feuchtigkeitsverhältnisse der Luft, dem Auftreten der Perldrüsen förderlich sein, was durch den nachstehenden Fall illustriert wird: Zu anderweitigen Versuchszwecken stand in einer nur von diffusem Licht getroffenen Ecke des Hausflurs unserer Station ein Bündel Reben mit ihrem Fußteil im Wasser. Diese Reben fingen an zu treiben und erzeugten dünne, vergeilte Triebe, die sich bald mit zahlreichen Perldrüsen bedeckten. Man kann wohl sagen, daß innerhalb eines trocknen Hausraumes die Feuchtigkeit der Luft fast immer eine geringere ist als in der Außenatmosphäre, so daß dieser Faktor in dem erwähnten Falle sehr wohl ausgeschaltet werden kann.

Als ätiologisch wichtiges Moment führen die meisten Autoren den Mangel an Sonnenschein an, so sagt auch Müller-Thurgau in seiner Arbeit über die Perldrüsen des Weinstockes (Schweiz. Zeitschr. f. Obst- u. Weinbau. 1906): „Besonders zahlreich und schön sah ich diese Gebilde an Gewächshausreben auftreten, sowie an Reben, welche ich zu diesen Beobachtungen im Zimmer, geschützt vor Zugluft und direkter Sonnenbestrahlung, austreiben ließ.“ Tomaschek (Oesterr. Bot. Ztg. 1879) und später Kreuz (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch., Wien 1881) beobachteten das Auftreten von Perldrüsen bei Ampelopsis hederacea an solchen Zweigen, die in einen dunklen Raum (Bretterschuppen) hineinwuchsen.

Gegen Herbst hin, oft auch schon früher, fangen die anfänglich sehr turgeszenten Perldrüsen an zu schrumpfen, ihr Zellgewebe stirbt ab und nimmt eine dunkelbräunliche Farbe an. Da die Drüsenzellen mit dem darunterliegenden Gewebe des Pflanzenteils in organischem Zusammenhang stehen, so werden die an den Basalteil der Drüse angrenzenden Zellpartieen durch osmotische Infiltration der Zersetzungsprodukte gleichfalls in den Absterbeprozeß hineingezogen. So entstehen, wie ich feststellen konnte, jene kreisförmigen, schwarzen, etwa 1 mm großen Flecken, in deren Mitte man häufig noch die meist von saprophytischen Schwärzepilzen befallene, zu einem kleinen schwarzen Knötchen eingeschrumpfte Perldrüse aufsitzend findet. Zum Schutz gegen ein weiteres Vorschreiten der Zellennekrose läßt dann die Rebe jenen Korkschutzgürtel entstehen, der bereits oben erwähnt wurde, und der dann die abgestorbene Zellpartie durch Raumverdrängung etwas erhaben über die Oberfläche des Rebteils hervortreten läßt. Die Entstehungsgeschichte dieser Perldrüsenflecken habe ich in fortschreitender Entwickelung auf Tafel I, Fig. 1—3 zur Darstellung gebracht.

Eine gewisse Aehnlichkeit mit der eingangs beschriebenen Fleckenbildung an den Spaltöffnungen haben jene Fleckchen, die sich im Umkreis der Eindringungsstelle der Haustorien des Myceliums von Uncinula necator (= Oidium Tuckeri) bilden. Gemäß der Ausbreitung des Pilzes von verschiedenen Infektionsstellen aus, stehen diese mit unbewaffnetem Auge kaum voneinander unterscheidbaren Fleckchen in größeren Gruppen beieinander, die eine unregelmäßig rundliche Gestalt haben und in der Mitte infolge größerer Häufung der Fleckenpunkte dunkler gefärbt sind, während die Randpartieen eine hellere Nüancierung zeigen, die langsam verschwindend verläuft (Fig. 3).

Unter dem Mikroskop können wir noch deutlich die Eindringungsstellen der Haustorien in die Zellen der Epidermis in Form kleiner runder Löcher wahrnehmen (Fig. 7). Darin gleicht diese Fleckenbildung sehr derjenigen, die wir zuerst beschrieben haben. Doch bestehen bei den durch Uncinula verursachten Flecken wesentliche, sofort in die

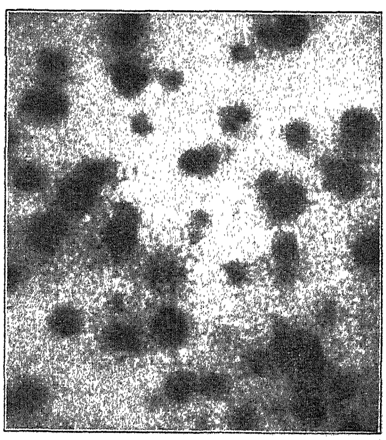


Fig. 7. Durch Uncinula necator verursachte Fleckenbildung; Flächenansicht.

Augen springende Unterschiede. Die Flecken, die sich im Umkreis der Stomata bilden, liegen meist auf kleinen Erhabenheiten, den Rindenwarzen, die bei ihrer Entstehung durch Dehnung und Wachstum eine mehr oder weniger radiale Anordnung und Streckung der umliegenden Epidermiszellen veranlassen. Beide Merkmale fallen bei den durch Uncinula hervorgerufenen Fleckchen weg; auch betrifft hier der Absterbeprozeß meist nur die Zellen der Oberhaut.

Vom weinbautechnischen Standpunkte können wir den Oidiumflecken auf dem Rebholz nur eine symptomatische Bedeutung einräumen, insofern sie uns über die Tatsache und die Größe des Pilzbefalls der Mutterstöcke wertvolle Fingerzeige geben. Eine direkte Schadenwirkung durch die Flecken für die Reben bei ihrer Verwendung als Setzholz ist, falls man von der Uebertragbarkeit des Pilzes absieht, zu verneinen, doch läßt das zahlreiche Vorhandensein dieser Flecken auf die schlechte Ernährung des so gezeichneten Holzes einen Rückschluß zu, der dem Anwachsungsprozentsatz und der Wuchsenergie derartiger Setzlinge ein ungünstiges Prognostikon stellt.

Eine vierte Art von Flecken, die wir hier anreihen wollen, wird verusacht durch die Einwirkung fungizider Spritzflüssigkeiten, so namentlich durch die in allgemeiner Verwendung stehende Bordeauxbrühe. Derartige Flecken charakterisieren sich auf dem Rebholz durch ihre längliche, unregelmäßige, doch meist etwas abgerundete Gestalt und ihre Lagerung zwischen den Längsstreifen der Triebe (vergl. Fig. 4). Meist treten sie auch etwas flach erhaben hervor. An den Knoten sind sie häufig in größerer Zahl vorhanden als auf den Internodien. Auf Querschnitten sieht man, daß sie nicht tief, selten bis zu den primären Bastbündeln in das Rindengewebe eingreifen (vergl. Fig. 8). Nur bei ganz jungen Trieben werden sie zu tieferen Schädigungen führen. Im allgemeinen ist ihnen eine praktische Bedeutung nicht beizumessen. Das mit solchen Flecken behaftete Rebholz eignet sich zu allen Verwendungsarten, denn der Peridermgürtel, der bekanntlich bei der Rebe unterhalb der primären Bastbündel angelegt wird, läßt diese Schädigungen später in den Bereich der vertrocknenden äußeren Rinde fallen.

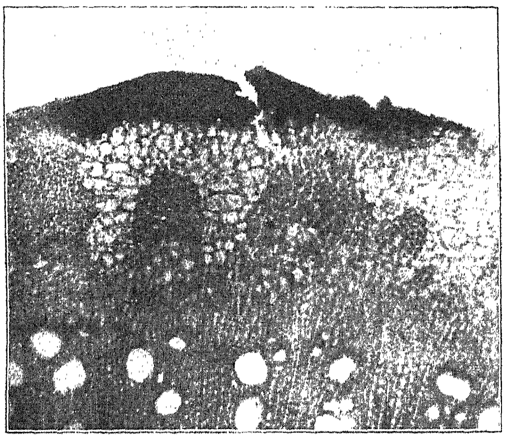


Fig. 8. Bordeaux-Fleck; Querschnitt.

Nach den Beobachtungen von Muth (Mitt. des Deutschen Weinbau-Ver. 1906) und Lüstner (Ber. der Kgl. Lehranstalt. 1906) sind für die durch Bordeauxbrühe entstandenen Verbrennungserscheinungen in erster Linie die Witterungsverhältnisse und die durch sie veranlaßten anatomischen Gewebeverhältnisse, namentlich die schwache Ausbildung der Oberhaut der grünen Rebteile, verantwortlich zu machen. Große Feuchtigkeit der

Luft und Sonnenmangel wirken für die genannten Schäden in erster Linie prädisponierend. Je mehr Kupfersulfat die Spritzflüssigkeit enthält, desto beträchtlicher ist im allgemeinen die Schadenwirkung. Wie die Versuche von Hedrick (New York Agric. Exp. Stat., Bull. 287) dartun, kann ein Ueberschuß an Kalk die Bordeauxschäden weder verhindern, noch wesentlich verringern. Auf alle Fälle wird es ratsam sein, in Jahren, die infolge ihrer Witterungsverhältnisse eine sehr frühzeitige Anwendung der Kupferkalkbrühe notwendig machen, anfänglich nur mit $^1/_2$-proz. Brühe zu arbeiten. Allerdings muß dann das Spritzen in entsprechend geringerem Zeitraum wiederholt werden.

Indem wir nun übergehen zu den größeren, meist aber auch nur mehr vereinzelt auftretenden Fleckenbildungen, wollen wir zunächst die durch mechanische Reibung auf dem Rebholz entstehenden Erscheinungen einer Betrachtung unterziehen. Diese Flecken (Fig. 9) haben meistens eine langgezogene Gestalt, sie sind oft mehrere Zentimeter lang. An den einjährigen ausgereiften Trieben sehen wir meist in der Mitte des Fleckens eine geschwärzte Partie, die allmählich in die hellgrau gefärbten Endpartieen ausläuft. Die geschwärzte Stelle zeigt die tiefere Verwundung an, innerhalb deren Bereich das Rindengewebe mehr oder weniger tief abgestorben ist, die hellgraue Farbe kennzeichnet oberflächliche Abschürfungen mit darauffolgender Wundkorkbildung. Tritt diese Verwundung frühzeitig bei noch wachsenden Trieben auf, dann wird die äußerliche Wundkorkzone durch mehrere längs und quer verlaufende, hellere, etwa $^1/_2$—1 mm breite Linien durchbrochen, die Zerreißungsstellen der primären Wundkorklage mit folgender sekundärer Korkbildung darstellen. Nur selten kommt es vor, daß durch Reibewunden das Holz freigelegt wird.

Am häufigsten trifft man Reibestellen an Reben in Drahtanlagen; bei der Pfahlkultur sind sie weit seltener und hier auch meist nur am obersten Teil der Reben, der durch das Heftband fester an die Stütze gezogen wird. Im allgemeinen sind die Verletzungen durch Reibung mehr harmloser Natur. Selten berühren sie die Cambialzone. Bleibt das Cambium erhalten, so wird dieses das zerstörte Gewebe bald wieder restituieren. Der herbstliche Peridermgürtel wird dann entsprechend tiefer an der Grenze des gesunden Gewebes angelegt (s. Fig. 10) und

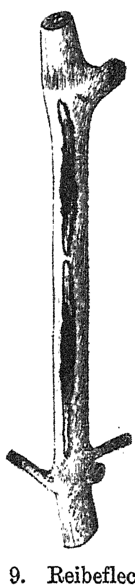


Fig. 9. Reibeflecken.



Fig. 10. Reibestelle mit tiefer angelegtem Peridermgürtel.

erscheint an der Verwundungsstelle früher als im gesunden Teil des Rebtriebes. Oberflächliche Reibestellen beeinträchtigen deshalb in keiner Weise den Wert des Rebholzes in seiner Verwendung als Trag-, Setz- oder Veredelungsholz.

Anders sind jene Flecken zu beurteilen, die ihre Entstehung dem mechanischen Einfluß des Druckes der Hagelkörner verdanken (Fig. 11 u. 12). Mit der Fleckenbildung vereinigt sich hier auch meist eine äußerlich sichtbare klaffende Wunde, deren Heilungsprozeß nur sehr langsam vor sich geht, da die Druckstelle immer noch weit in das scheinbar unverletzte Gewebe übergreift, was später deutlich durch die Bräunung der

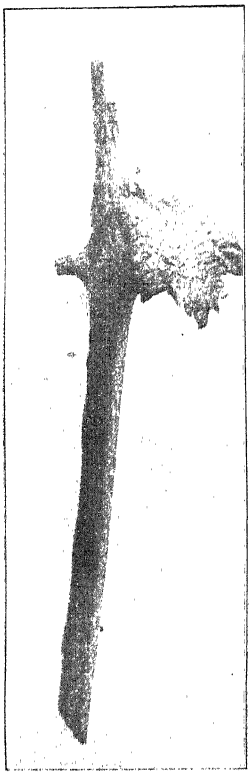


Fig. 11. Fleckenbildung infolge Hagelschlags.

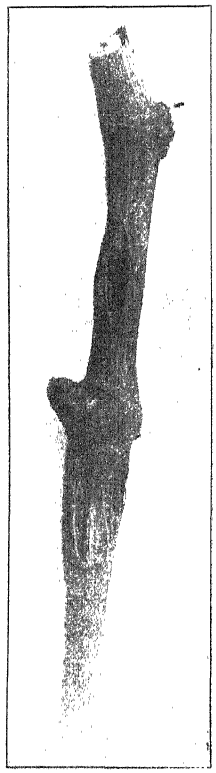


Fig. 12. Verheilte Hagelschlagwunden.

peripheren Zone zum sichtbaren Ausdruck kommt. Die Hagelwunden kennzeichnen sich weiter durch ihre sehr unregelmäßige Gestalt und die beulenförmige Auftreibung der ganzen Wundstelle und ferner durch ihre einseitige Stellung an den Reben, entsprechend der Strichrichtung des Hagelwetters. Neben den größeren Flecken und Wunden trifft man auf den Reben auch zahlreiche kleinere, tuberös hervortretende Wundstellen, bei denen die innere Verletzung sich nur auf das Rindenparenchym erstreckt, während bei ersteren die Verwundung und Gewebezerreißung bis in das Holz, ja bis in das Mark eingreift.

Die Verheilung der Hagelwunden geht je nach ihrer Größe und vor allem gemäß dem Grade der vorhandenen Reservestoffe und der noch gebliebenen Assimilationsorgane, sowie der Art der Wetterlage schnell oder langsam vor sich. In letzterer Beziehung ist eine warmfeuchte Witterung dem Heilungsprozesse sehr vorteilhaft, während starke Trockenheit die Wunden stark austrocknet und so beträchtlich vergrößert. Ueber die Art und Weise der Ausheilung einer Hagelwunde gibt uns der mikroskopische Schnitt auf Taf. II Fig. 1 einen Einblick. Die Verwundung hat hier zu einer Zerreißung des Holzringes geführt und reicht bis zum Mark. Das letztere beginnt nun reichlich zu proliferieren, indem sich die an die Wunde anschließenden Markzellen tangential fächern und vergrößern und die Wunde allmählich mit einem „heteroplastischen“ Gewebe (Küster) füllen, das aus einem sehr dünnwandigen Parenchym, das durch reihenweise angeordnete Zellen mit verdickten Wandungen unterbrochen ist, besteht. Rechts von der Wunde setzt in gleicher Weise das Cambium und das Rindenparenchym mit einem breitangelegten Ueberwallungswulst ein. Wird bei der Verwundung die Cambialschicht in größerem Umfang freigelegt und vertrocknet diese, dann bräunt sich auch die periphere Holzpartie, und die Ueberwallung erfolgt vom Rande der Wunde, besonders vom oberen Teil aus, aber meist langsam und unvollständig.

Nach den Beobachtungen von Zschokke (Weinbaukongreß. 1905) leiden Sorten mit sehr mastigem Holz, so die Portugieserrebe, besonders stark unter den aufschlagenden Hagelkörnern. Auch hat nach Z. die Richtung des Verlaufs der Zeilen einen bedeutenden Einfluß auf die Größe der Schadenwirkung. Am ausgeprägtesten waren die Schäden da, wo die Zeilung quer zur Strichrichtung des Hagelwetters stand.

Mit Hagelschäden behaftetes Rebholz hat nur geringen Wert als Tragholz, wie sich überhaupt aus physiologischen Gründen in verhagelten Weinbergen ein besonders kurzer Schnitt im folgenden Frühjahr empfiehlt. Auszuschließen ist solches Holz bei allen Vermehrungsarten des Weinstockes, da es einerseits schlecht ausgereift ist, aus welchem Grunde es auch im Winter schon geringen Kältegraden erliegt, und da anderseits die meist schlecht ausgeheilten Wunden im Boden gar zu leicht Angriffspunkte für holzzerstörende Pilze und Bakterien abgeben.

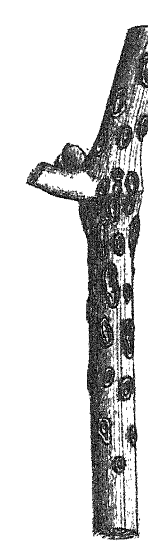


Fig. 13. Schwarzbrenner-Flecken.

Zum Schluß sei noch einer Pilzkrankheit des Weinstocks gedacht, die auch die Triebe befällt und hier Flecken erzeugt, die in ihrem äußeren Habitus mit den Hagelbeschädigungen gewisse Vergleichsmöglichkeiten geben. Ich meine jene vertieftliegenden, graubraunen, unregelmäßig rundlichen Flecken, die mit einem dunkelbraunen Ringwulst umgeben sind und durch den Schwarzbrennerpilz, Sphaceloma ampelinum, erzeugt werden (s. Fig. 13). Diese Flecken entstehen auf den Trieben schon sehr frühzeitig, sie sind anfänglich rotbraun bis graurosa und mit einem dunkelfarbigeren Ring umgrenzt. Die anfänglich etwas erhaben hervortretende innere Fleckenpartie sinkt allmählich ein und wird dann von dem dunkelbraunen Ring wallartig umgeben. Im Innern des Fleckens

treten häufig die bloßgelegten primären Baststränge in Form weißer, schmaler Längsstreifen zu Tage.

Ein Querschnitt durch einen Brennerflecken im weiter vorgeschrittenen Stadium (Taf. II Fig. 2) zeigt uns, daß das Rindengewebe vollkommen abgestorben und zusammengefallen ist. Die primären Bastbündel liegen teilweise entblößt, der Holzkörper ist stark reduziert, und die Bräunung des Gewebes pflanzt sich vom Rindenteil durch die Markstrahlen bis zum Marke fort. Häufig treten in dem gebräunten Gewebe auch Spaltungen auf, die auf Spannungen infolge Weiterwachsens der nicht infizierten Rebteile zurückzuführen sind. Die Mycelfäden sind sehr fein, und sie verdichten sich später in den erkrankten Gewebeteilen zu parenchymatischen Sklerotien.

Vom Standpunkte des praktischen Weinbauers untersteht Rebholz, das von den „Schwindpocken" befallen ist, in der Richtung der Verwendung zur Vermehrung der gleichen Beurteilung wie verhageltes Holz, ja das Moment der Ansteckungsgefahr der solcherweise erkrankten Rebenteile wird dem Winzer deren schleunige Entfernung aus dem Rebfelde und ihre möglichst baldige Verbrennung ratsam machen, zumal die fungizide Bekämpfung des Brennerpilzes größere Schwierigkeiten macht und nicht immer von dem erwünschten Erfolg begleitet ist.

Zur Biologie des Mutterkorns.

Von Dr. **Robert Stäger,** Bern.

(Fortsetzung früherer Untersuchungen.)

Der Samenkatalog von 1906/07 des Stockholmer botanischen Gartens bot Sklerotien von Claviceps purpurea Tulasne zum Tausch an, welche auf Festuca arundinacea geerntet worden waren.

Herr Prof. Wittrock in Stockholm, dem ich an dieser Stelle meinen besten Dank abstatte, hatte die Freundlichkeit, mir am 6. März 1907 eine größere Probe dieser Mutterkörner zugehen zu lassen.

Gleich am folgenden Tage (7. März 1907) wurden sie in 2 Töpfe ausgesät, um keine Zeit mehr zu verlieren, denn es war jedenfalls der äußerste Termin, um die Sklerotien dieses Jahr noch zum Keimen zu bringen. Einige Tage verblieben die beiden Töpfe im Freiland des Berner Botanischen Gartens. Der in jenen Tagen noch ziemlich reichlich gefallene Schnee und dessen Schmelzwasser trugen dazu bei, die Sklerotien aufzuweichen und zur Keimung vorzubereiten. Später verbrachte man die Töpfe in ein Kalthaus und von Anfang April an gab man ihnen ihren definitiven Platz in einem Warmhaus. Am 2. Mai konstatierten wir den ersten Anfang der Keimung der Sklerotien und am 7. Mai hatten wir schon eine ganze Anzahl reifer Keulensphäridien zur Verfügung.

Der Versuch lehrt, daß man die Keimung der Sklerotien sehr beschleunigen kann, sobald man günstige Bedingungen schafft. In der freien Natur liegen die Mutterkörner 4—6 Monate auf bezw. in der Erde, bevor die Keimung erfolgt, dann setzt sich aber letztere bis tief in den Juni hinein fort, wie schon Tulasne und auch wir wiederholt beobach-

Emil Molz, *Ueber pathogene Fleckenbildungen auf einjährigen Trieben der Weinrebe (Vitis vinifera).*

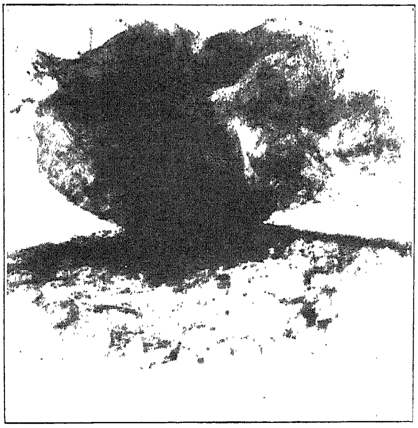


Fig. 1.

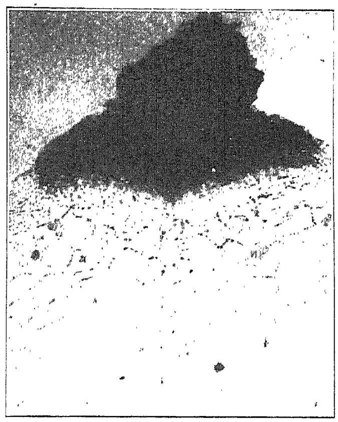


Fig. 2.

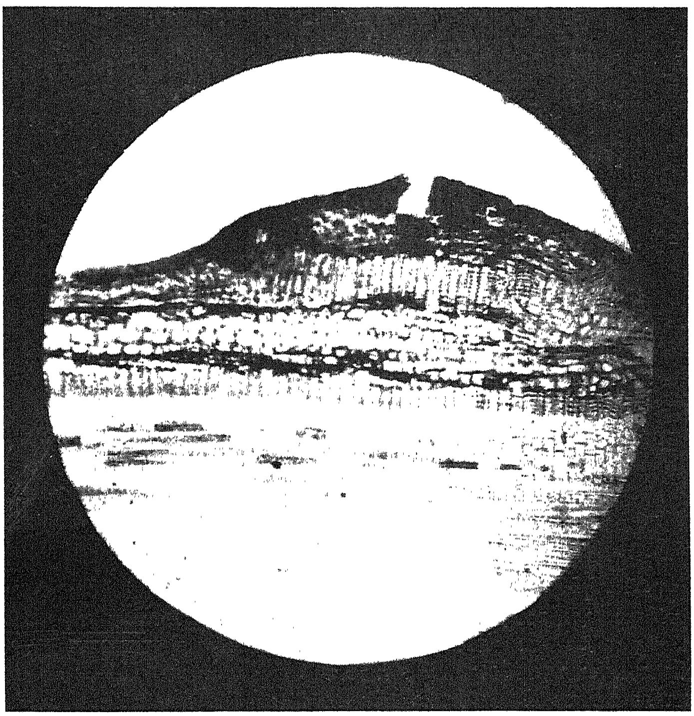


Fig. 3.

Molz phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Emil Molz, *Ueber pathogene Fleckenbildungen auf einjährigen Trieben der Weinrebe (Vitis vinifera).*



Fig. 1.

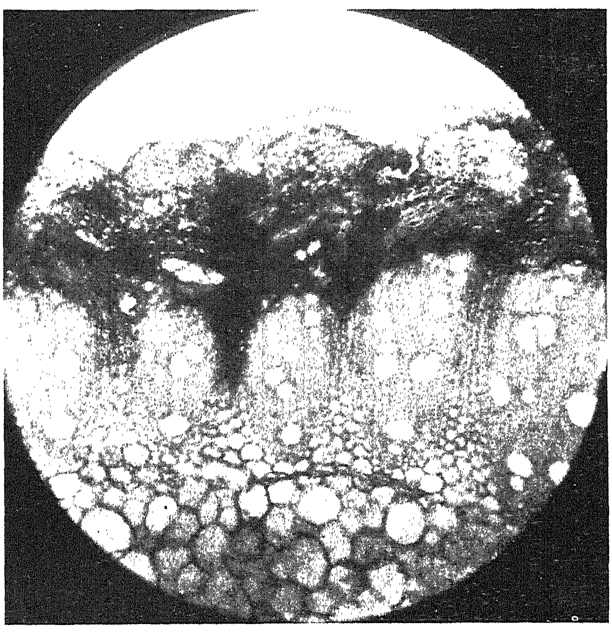


Fig. 2.

Molz phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

teten. Diese scheinbare Vergeudung an Keimen ist offenbar eine sehr zweckmäßige Einrichtung der Natur, um die Infektion der Nährpflanzen des betreffenden Pilzes sicher zu gewährleisten. Dies übrigens nur nebenbei!

Der Zweck unserer Aussaat der vom Stockholmer Botanischen Garten als Claviceps purpurea Tulasne bezeichneten Mutterkörner lag nun eigentlich in dem durch Infektionsversuche zu erhärtenden Nachweis, ob es sich wirklich um den typischen Mutterkornpilz des Roggens oder um eine biologische Art desselben handle. Denn wir haben schon in unseren früheren Arbeiten*) über Claviceps gezeigt, daß morphologisch nicht unterscheidbare Mutterkörner ganz verschiedene Nährpflanzenbreite beanspruchen können.

Zur Entscheidung dieser Frage leiteten wir daher die folgenden Infektionsversuche ein.

1. Infektionsversuche mit dem in Stockholm auf Festuca arundinacea vorkommenden Mutterkorn.

I. Infektionsversuch mit Ascosporen der Claviceps von Festuca arundinacea herstammend.

Am 11. Mai 1907 impften wir mit den Ascosporen der am 7. Mai 1907 ausgesäten Sklerotien, die bei Stockholm auf Festuca arundinacea gefunden worden waren, durch Eintauchen der blühenden Rispen in die Impfflüssigkeit folgende Gramineen:

I_1 Anthoxanthum odoratum,
I_2 Anthoxanthum odoratum,
I_3 Melica nutans,
I_4 Melica nutans.

Die beiden Anthoxanthum odoratum stammten von früheren Versuchen her und hatten sich in den Freilandkasten des Berner Botanischen Gartens zu kräftigen Pflanzen entwickelt. Die beiden Melica nutans waren aus der eidgenössischen Samenkontrollstation in Zürich bezogen worden. Alle 4 Exemplare wurden schon am 6. Mai 1907 in völlig unaufgeblühtem Zustand in eine der Versuchszellen des neuen Palmenhauses verbracht.

Am Tage der Impfung (11. Mai) waren alle 4 Gramineen in die Anthese getreten. Am 28. Mai konstatierten wir an Anthoxanthum odoratum I_2 einige wenige Tropfen Honigtau und am 31. Mai an I_3 (Melica nutans) einen großen Tropfen Honigtau.

Der in der zweiten Hälfte des Mai eingetretene Kälterückschlag hatte unbedingt die Infektion bei I_2 und I_3 um einige Tage verzögert, denn unter normalen Verhältnissen tritt ein positiver Erfolg ziemlich sicher am 14. Tage nach der Impfung ein.

Daß Melica nutans mit Honigtau reagierte, muß ziemlich befremden, da wir im vorigen Jahr dieselbe Graminee mit den Konidien der Seslerienclaviceps impften und auch einen positiven Erfolg notierten. Um eine Versuchsverunreinigung konnte es sich damals nicht handeln,

*) 1) Infektionsversuche mit Gramineen-bewohnenden Claviceps-Arten. (Bot. Ztg. 1903. Heft 6/7.) 2) Weitere Beiträge zur Biologie des Mutterkorns. (Centralbl. f. Bak. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. No. 1.) 3) Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. No. 22/24.)

denn die Messung der Konidien bewies, daß der Erfolg direkt der Infektion mit Claviceps von Sesleria coerulea zuzuschreiben war.

Bekanntlich messen die Konidien der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens (mit dem Okularmikrometer 3 und dem Objektiv 7, Leitz gemessen) 7 μ in die Länge und 3,5 μ in die Breite, während die Konidien der Claviceps Sesleriae (mit demselben Instrument gemessen) 10,5—14 μ lang und 3,5—5,2—7 μ breit sind. (Siehe übrigens meine Arbeit „Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns". Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. No. 22/24. p. 777 u. 784.)

Wir maßen nun auch sofort die Konidien, die im Honigtau von Melica nutans (I_3) am 31. Mai 1907 aufgetreten waren und stellten mit dem nämlichen Meßapparat folgende, durchaus für Claviceps purpurea Tulasne sprechende Dimensionen fest: Länge = 7 μ; Breite = 3,5 μ. Aus der Messung allein wagten wir immerhin noch keine verbindlichen Schlüsse zu ziehen und versuchten durch weitere Infektionskombinationen zu einem sicheren Urteil zu gelangen. Es wurde daher der folgende Versuch angestellt:

II. Infektionsversuch mit Ascosporen der Claviceps von Festuca arundinacea herstammend.

Am 28. Mai 1907 wurden mit demselben Impfmaterial wie beim Infektionsversuch I durch Eintauchen der Rispen in die Impfflüssigkeit folgende Gräser infiziert:

II_1 Anthoxanthum odoratum } aus dem Berner bot. Garten,
II_2 Anthoxanthum odoratum } vor der Anthese eingetopft.
II_3 Poa alpina } hatten schon früher mehrmals zu Versuchen
II_4 Poa alpina } gedient.
II_5 Bromus erectus }
II_6 Bromus erectus } Samenkontrollstation Zürich 1907 be-
II_7 Melica nutans } zogen.
II_8 Melica nutans }

Anthoxanthum odoratum II_1 verstrohte rasch. An Anthoxanthum odoratum II_2 traten am 11. Mai die ersten Honigtautropfen auf, denen in den nächsten Tagen noch weitere folgten.

Die beiden Poa alpina und die zwei Bromus erectus zeigten trotz frischen Aussehens nicht eine Spur von Claviceps-Infektion, auch bei wiederholter Untersuchung nicht.

Anthoxanthum odoratum reagierte sowohl beim Versuch I als beim Versuch II prompt auf die Impfung. Das Ruchgras ist eine Graminee, die nur von der typischen Claviceps purpurea Tulasne des Roggens befallen wird. Die in Frage stehende Claviceps auf Festuca arundinacea muß daher wirklich mit dem Roggenmutterkorn identisch sein.

Bekanntlich erzeugt der Pilz auf dem Ruchgras nur Honigtau oder höchstens rudimentäre Sklerotien. Im vorigen Jahr wiesen wir aber auch eine alpine sklerotienbildende Varietät der typischen Claviceps purpurea Tulasne des Roggens auf Anthoxanthum odoratum nach. (Siehe p. 780 und 782 meines „Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns" 1906.) Um diese Varietät kann es sich nicht handeln, denn wir beobachteten bei beiden diesjährigen Versuchen immer nur Honigtau.

Es muß demnach die ganz gewöhnliche Claviceps purpurea Tulasne des Roggens sein, welche bei Stockholm auf Festuca arundi-

nacea gefunden wurde. Die im Samenkatalog des Stockholmer Botanischen Gartens wohl nur nach morphologischen Eigenschaften aufgestellte Bezeichnung: Claviceps purpurea Tulasne hat somit auch ihre experimentelle Bestätigung gefunden.

Der negative Erfolg bei Poa alpina (II_3 und II_4) und Bromus erectus (II_5 und II_6) ist aus dem Vorstehenden leicht ersichtlich. Einen Mutterkornpilz, der Anthoxanthum odoratum befällt, haben wir bei allen unseren Impfversuchen, die ziemlich zahlreich sind, noch nie auf Bromus erectus und nur ein einziges Mal, und zwar mit ganz geringem Erfolg, auf Poa alpina übertragen können. (Vide meine erste Claviceps-Arbeit vom Jahre 1903.)

Daß aber die beiden Melica nutans (II_7 und II_8), die frisch zu sein schienen, nicht reagierten, nachdem doch dieses Gras in Versuch I mit positivem Erfolg infiziert worden war, mußte auffallen. Wir leiteten daher den folgenden Versuch ein:

III. Infektionsversuch mit Konidien von I_8 (Melica nutans) herstammend.

Am 1. Juni 1907 wurden mit dem an Melica nutans der ersten Versuchsreihe aufgetretenen Honigtau nach unserem üblichen Verfahren folgende Gräser geimpft:

III_1 Arrhenatherum elatius
III_2 Arrhenatherum elatius
III_3 Arrhenatherum elatius
III_4 Dactylis glomerata
III_5 Anthoxanthum odoratum
} Im Freiland des botanischen Gartens Bern ausgegraben und eingetopft

Alle 5 Gramineen waren 8 Tage vor der Impfnng und ebenso lange vor der Anthese in den abgeschlossenen Versuchsraum hereingebracht worden. Für eine entsprechende Zahl von Kontrollpflanzen war gesorgt worden. Es mag jetzt schon erwähnt werden, daß von den letzteren, die doch, zum Teil aller Infektion preisgegeben, im Freien standen, nach 14 Tagen und noch nach 3 Wochen keine einzige weder Honigtau noch Sklerotien zeigte.

In unserem Versuchshäuschen begab sich aber folgendes: Am 11. Juni glitzerte an III_3 das erste Honigtautröpfchen, dem bald eine ganze Menge, fast an allen Aehrchen, nicht nur an III_3, sondern auch an den übrigen zwei Arrhenatherum elatius, sowie an Anthoxanthum odoratum (III_5) folgten. Dactylis glomerata (III_4) reagierte erst am 13. Juni, aber gleich so massenhaft, daß die Honigtautropfen den ganzen Blütenstand bedeckten.

Eine Versuchsverunreinigung war unter solchen Umständen durchaus nicht annehmbar. Das massenhafte Befallensein einerseits und der Termin des Eintritts der Infektion (ca. 11—13 Tage in der warmen Temperatur der gläsernen Versuchsräume) sprechen durchaus für die Vollgültigkeit des Versuches. Alle 5 Gramineen konnten nur von Melica nutans (I_3) aus infiziert worden sein. Dann ist es aber auch evident, daß Melica nutans (I_3) in Versuch I von Claviceps purpurea Tulasne der Festuca arundinacea aus befallen sein mußte, denn auf Arrhenatherum elatius sowohl als auf Dactylis glomerata und Anthoxanthum odoratum kommt nur die typische Claviceps purpurea Tulasne des Roggens vor.

Auch die Maße der Konidien bei Melica nutans (I_3) stimmen,

wie wir schon gesehen haben, für die Identität der Melica-Claviceps mit dem Roggenmutterkorn.

Wir haben somit die interessante Tatsache vor uns, daß ein und dieselbe Nährpflanze zwei verschiedene Mutterkornarten beherbergen kann. Wir erinnern uns, daß wir letztes Jahr die Claviceps Sesleriae auch auf Melica nutans überimpfen konnten.

Das Vorkommen von Claviceps purpurea Tulasne des Roggens und der Claviceps Sesleriae Stäger auf Melica nutans ist also experimentell bestätigt. Es blieb aber in beiden Fällen bei einer Abscheidung von Honigtau mit nicht sehr reichlichen Konidien. Zur Entwickelung von Mutterkörnern kam es nie. Ebensowenig haben wir in der freien Natur trotz fortgesetzten und eifrigen Suchens je einmal auf Melica nutans Honigtau oder Sklerotien finden können. Die Literatur erwähnt Melica nutans ebenfalls nicht unter den Nährpflanzen von Claviceps. Es scheint somit Melica nutans nur bei massenhafter und intensiver Infektion, wie dies beim künstlichen Versuch stattfindet, in geringem Maße befallen zu werden.

Analoge Erscheinungen sind bei den Uredineen genug bekannt, wo ein einziger Wirt zwei und mehrere Arten oder biologische Arten beherbergt. Ich erinnere hier an die Versuche Ernst Jordis mit Papilionaceen-bewohnenden Uromyces-Arten[1]) von denen Uromyces Fabae (Pers.) Schroeter in 3 biologischen Formen (nämlich die Form auf Vicia Faba, die Form auf Vicia Cracca und die Form auf Lathyrus vernus) auf Pisum sativum überimpft werden konnte. Pisum sativum stellt einen sogenannten Sammelwirt dar. Vor kurzer Zeit konstatierte Paul Cruchet[2]) ein ähnliches Verhalten bei Puccinia Menthae Pers. und deren Wirten. So kann z. B. Mentha viridis nebst ihrer eigenen biologischen Form von Puccinia Menthae auch die Form auf Mentha longifolia und Satureya hortensis, die Form auf Mentha longifolia, die Form auf Mentha viridis und die Form auf Mentha arvensis beherbergen.

Melica nutans muß demnach auch als sogenannter Sammelwirt für Claviceps angesprochen werden.

Resumé: 1) Die Claviceps auf Festuca arundinacea[3]), die bei Stockholm gefunden worden war, ist identisch mit der typischen Claviceps purpurea Tulasne des Roggens;

2) Die typische Claviceps purpurea Tulasne geht, wenigstens bei intensiver Infektion im Versuchsraum, auch auf Melica nutans. Melica nutans präsentiert einen sogenannten Sammelwirt, da auch Claviceps Sesleriae Stäger diese Graminee im Versuchsraum zu befallen vermag.

2. Infektionsversuche mit dem bei uns auf Poa annua vorkommenden Mutterkorn.

Schon vor 7 Jahren führten wir Impfversuche aus, welche der Auf-

1) Inaug.-Diss. Abdruck aus dem Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XI. 1904. No. 24/25. Jena (Gustav Fischer).

2) Contribution à l'étude biologique de quelques puccinies sur labiées. [Dissertation.] Extrait de Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. Jena (Gustav Fischer).

3) Kürzlich fand Herr Dr. Jordi diese Claviceps ebenfalls auf Festuca arundinacea in der Umgebung der landwirtschaftl. Schule Rütti (Kanton Bern). Ich danke Herrn Dr. Jordi an dieser Stelle für die mir überreichten Belegexemplare.

fassung Raum gaben, das Mutterkorn auf Poa annua möchte eine besondere biologische Art der Claviceps purpurea Tulasne sein. Die Annahme wurde nahegelegt durch den Umstand, daß Poa annua weder mit dem typischen Roggenmutterkorn noch mit der Claviceps der Glycerie infiziert werden konnte. Auch ging das Mutterkorn von Poa annua seinerseits nicht auf die Lolium-Arten über. (Vergleiche p. 144 u. 145 meiner ersten Arbeit vom Jahre 1903 „Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden Claviceps-Arten".)

Um neuerdings Versuche mit diesem fraglichen Mutterkorn anzustellen, begaben wir uns an die alte Fundstelle nach Außerholligen bei Bern, wo wir 1900 massenhaft Honigtau auf Poa annua angetroffen hatten. Unser Suchen war aber dieses Jahr (Herbst 1907) von keinem Erfolg begleitet. Poa annua fanden wir zwar in großer Anzahl blühend, aber ohne Honigtau. Auch an anderen Orten in der Nähe von Bern waren wir nicht glücklicher. Das war ganz Anfangs September. Vielleicht mochte es noch zu früh sein; denn vor 7 Jahren hatten wir am 13. September Honigtau von Poa annua genommen.

Unsere Versuchspflanzen harrten schon der Infektion, die wir ohne viel Mühe vorzunehmen hofften — und nun fehlte es an Impfmaterial. Sklerotien hatten wir auch keine aussäen können, da wir bis jetzt auf Poa annua nie solche beobachtet hatten. Da führte uns der Weg am 8. September (1907) nach Einsiedeln im Kanton Schwyz, ca. 900 m hoch gelegen. Dort gewahrten wir am Weg nach dem Freiherrenberg an Poa annua mehrere Arten von Fliegen, welche geschäftig an den Rispen herumliefen. Insekten hatten uns schon öfters Honigtau an Gräsern verraten, und richtig hatten sie uns auch dieses Mal nicht getäuscht. Sämtliche Blütenstände unserer Graminee waren über und über voll von Honigtau, und zum erstenmal beobachtete ich nun auch kleine, aber ordentlich ausgebildete Sklerotien, deren ich so viele mitnahm, als ich konnte und die zu einer späteren Aussaat dienen sollen. Mit dem gesammelten Honigtau aber, den ich in einem Fläschchen gut nach Hause brachte, machte ich gleich am folgenden Tage den untenstehenden Versuch.

I. Infektionsversuch mit Konidien der Claviceps von Poa annua herstammend.

Am 9. September 1907 impften wir mit dem in Einsiedeln auf Poa annua gefundenen Honigtau folgende Gräser:

I_1 Poa annua	Lange vor der Anthese aus dem botanischen Garten Bern ausgegraben, eingetopft und in den Versuchsraum gestellt
I_2 Poa annua	
I_3 Poa annua	
I_4 Poa annua	
I_5 Poa annua	
I_6 Hordeum sativum	
I_7 Arrhenatherum elatius	
I_8 Aira caespitosa	

Schon am 21. September konstatierten wir an Poa annua (I_3) einige helle Honigtautröpfchen und bis zum 24. September war an sämtlichen 5 Poa annua kaum ein Aehrchen zu entdecken, das nicht übervoll von Honigtau gewesen wäre. Schon 8 Tage später waren deutlich Sklerotienansätze zu sehen, die sich zu wohlausgebildeten Mutterkörnern entwickelten.

Hordeum sativum, Arrhenatherum elatius und Aira caespitosa blieben auch später völlig immun.

Der Pilz scheint somit nur seinen Wirt zu befallen.

Immerhin stellten wir uns mit diesem Resultat noch nicht zufrieden und leiteten den folgenden Versuch ein, um den eventuellen weiteren Nährpflanzenkreis dieser Claviceps kennen zu lernen.

II. Infektionsversuch mit Konidien der Claviceps von Poa annua herstammend.

Am 22. September und den folgenden Tagen fanden wir am Muristalden (Bern) und auf dem Spitalacker (Bern) sowie auf einem Rasenplatz des hiesigen botanischen Gartens in Unmenge Honigtau und auch ziemlich oft Sklerotien auf Poa annua. Wir benutzten aber dieses Material absichtlich nicht für den Impfversuch II, sondern führten die Infektion mit dem an den Poa annua I_1—I_5 aufgetretenen Honigtau aus, um ja keine eventuelle Versuchsverunreinigung zu begehen.

Es wurden also mit den Konidien, die auf Poa annua des Versuchs I aufgetreten waren, geimpft:

II_1	Poa annua	
II_2	Bromus erectus	Aus meinem Pflanzenvorrat in den Freilandkästen des botanischen Gartens. Vor mehreren Jahren schon eingetopft
II_3	Bromus erectus	
II_4	Bromus erectus	
II_5	Aira caespitosa	Aus dem Freiland des botanischen Gartens, vor der Anthese eingetopft
II_6	Aira caespitosa	
II_7	Aira caespitosa	
II_8	Panicum miliaceum	
II_9	Poa caesia	Durch die Güte des Herrn Obergärtners Schenk aus der Alpenpflanzenanlage des hiesigen botanischen Gartens. Sehr schöne, frische Exemplare, vor der Anthese eingetopft
II_{10}	Poa alpina	
II_{11}	Poa alpina	
II_{12}	Poa cenisia	
II_{13}	Poa cenisia	

Poa annua (II_1) reagierte am 4. Oktober prompt mit Honigtau. Von den übrigen Versuchspflanzen zeigte nicht eine die Spur einer Infektion. Auch Poa alpina, Poa caesia und Poa cenisia, auf deren Verhalten wir gespannt waren, verhielten sich völlig immun.

Bromus erectus und Aira caespitosa nahmen den Pilz ebenfalls nicht an.

Bis jetzt steht folgendes fest: Die auf Poa annua vorkommende Claviceps geht mit Sicherheit nur auf ihren Wirt über. Sie vermeidet mit Entschiedenheit die Wirte des typischen Roggenmutterkorns, mit denen sie in Kontakt gebracht wurde, also Hordeum sativum, Arrhenatherum elatius (Versuch I); Poa alpina und Poa caesia (Versuch II). Auch wissen wir aus unserer früheren Arbeit, daß Poa annua nicht mit der Claviceps purpurea Tulasne des Roggens mit Erfolgt infiziert werden konnte.

Die Claviceps auf Poa annua vermeidet ferner die Wirte der biologischen Art von Claviceps purpurea Tulasne auf Lolium-Species und Bromus erectus (Versuch I u. II).

Wir haben schon früher erwähnt, daß Poa annua mit dem Mutterkorn auf Glyceria fluitans nicht mit Erfolg geimpft werden kann.

Nun kommt noch hinzu, daß auch Aira caespitosa, die wir zur Zeit (siehe meine erste Arbeit p. 154) mit Claviceps microcephala erfolgreich infizieren konnten, von der Claviceps auf Poa annua nicht befallen wird (Versuch I u. II).

Die Claviceps auf Poa annua muß daher, da besondere morphologisch-anatomische Eigenschaften nicht vorzuliegen scheinen, als biologische Art der typischen Claviceps purpurea Tulasne angesehen werden.

Immerhin werden wir die Sklerotien, die wir in Einsiedeln auf Poa annua sammelten, aussäen, ihre Entwickelung verfolgen und weitere Impfungen mit deren Askosporen vornehmen.

Es könnte sich übrigens nur noch darum handeln, ob die Claviceps auf Poa annua eventuell als gute Art sich herausstellen würde. Sobald wir die Keulensphäridien vor uns haben, kann die definitive Entscheidung nicht mehr schwer fallen.

Zum Schluß spreche ich allen denjenigen Herren, welche mich in dieser Arbeit irgendwie unterstützten, vor allem Herrn Prof. Ed. Fischer, Direktor des botanischen Gartens in Bern, Herrn Dr. Stebler, Direktor der schweizerischen Samenkontrollstation in Zürich, sowie Herrn Obergärtner Schenk in Bern und seinen Gehilfen für ihre werktätige Hilfe meinen herzlichsten Dank aus.

Bern, im November 1907.

Die Pilzkulturen der Nutzholzborkenkäfer.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **F. W. Neger**, Tharandt.

H. G. Hubbard hat im Jahr 1897 im Bull. U. S. Department of Agriculture, Division of Entomology, die Resultate seiner Untersuchungen über die nordamerikanischen „ambrosiabeetles" mitgeteilt und kommt zu folgenden Schlüssen: „Verschiedene Borkenkäfer züchten in der Regel verschiedene Pilze. Die Art des Pilzes hängt nicht vom Nährbaum ab, sondern stellt lediglich ein Züchtungsobjekt des Käfers dar. Jede Käferart hat ihren spezifischen Pilz, den sie mitnimmt und überall da züchtet, wo sie für gut findet ihre Wohnung aufzuschlagen etc." Ueber die Natur der von den Käfern gezüchteten Pilze ist bis jetzt noch wenig bekannt. Hubbard beschränkt sich darauf, die Ambrosia — d. i. die aus Pilzfäden bestehende Auskleidung der Wände der Wohnräume jener Käfer — zu beschreiben und abzubilden; er läßt sich von der Aehnlichkeit der aus mehr oder weniger kugeligen Zellen bestehenden Pilzfäden mit Konidienketten leiten und bezeichnet daher die Ambrosia direkt als aus Konidien bestehend. In der Tat erwecken die mit stark lichtbrechendem Inhalt erfüllter Zellen der Ambrosia durchaus den Eindruck von Konidien, weshalb auch schon Th. Hartig 1844 den Pilz von Xyleborus dispar als Monilia candida beschrieb.

Im Sommer 1907 habe ich versucht, die Pilze, welche einigen holzbewohnenden Borkenkäfern zur Nahrung dienen, reinzuzüchten, wobei ich mir vor allem die folgenden Fragen vorlegte:

1) Welche Pilzarten sind es, deren Konidien den Borkenkäfern zur Nahrung dienen?

2) in welcher Weise gelangt der Pilz in das Holz?

Es ist mir gelungen, die Antwort auf diese Fragen der Hauptsache

nach zu geben. Eingehendere Untersuchungen sind noch notwendig, um zu entscheiden, ob die von den verschiedenen Käferarten gezüchteten Pilze tatsächlich verschiedene Arten darstellen (nach Hubbard ist dies der Fall). Außerdem ist noch festzustellen, unter welchen Bedingungen die verschiedenen Fruchtformen der in Betracht kommenden Pilze zur Ausbildung gelangen.

Die Resultate meiner bisherigen Untersuchung möchte ich in folgenden Hauptsätzen zusammenfassen:

1) Die den Käfern zur Nahrung dienenden Zellreihen, welche wegen ihrer Aehnlichkeit mit den Konidienketten von Monilia candida als Konidienform des Pilzes angesehen worden waren, sind nicht Fortpflanzungszellen, sondern stellen eine — etwa den Kohlrabihäufchen der pilzzüchtenden Ameisen vergleichbare — Anpassung des Pilzes an die Bedürfnisse des Käfers dar.

Den Beweis hierfür ergaben folgende Tatsachen:

Ambrosia — d. h. eben jene konidienartigen Zellreihen — wurde auf verschiedene Nährböden gebracht (sterilisiertes Brot, Dextrosenährgelatine, sterilisiertes Holz). Die konidienartigen Zellen wuchsen auf keinem dieser Nährböden aus, sondern gingen stets unter Bräunung zu Grunde.

Von welchen Bedingungen die Bildung der Ambrosia abhängt, konnte noch nicht ermittelt werden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es dazu eines von dem Käfer ausgehenden Reizes bedarf; wenigstens fand ich wiederholt — zur Untersuchung diente hauptsächlich Material von Xyloterus lineatus — daß in Wiegen, welche aus irgend einem Grund leer geblieben waren und keine Larve beherbergten, auch die Bildung der Ambrosia unterblieben war. Einmal gelang es mir auf sorgfältig (mittelst sterilen Messers) auspräparierten Holzstücken aus der Nachbarschaft von Larvenwiegen in feuchten Kammern ambrosiaartige Zellfäden in großer Menge zu erziehen, welche hinsichtlich ihrer Ausbildung, ihres starken Glanzes und ihrer Keimungsfähigkeit durchaus mit natürlicher Ambrosia übereinstimmten.

Die meisten anderen derartigen Versuche ließen infolge bald eintretender Verunreinigung durch andere Pilze keine sicheren Schlüsse zu.

2) Der Pilz, dessen Ambrosiazellen dem Käfer zur Nahrung dienen, wird vom Käfer von außen hereingetragen und gezüchtet.

Man könnte annehmen, daß die in den Fraßgängen wachsende Ambrosia eine mehr zufällige Erscheinung sei, etwa derart, daß nur Bäume, deren Holz schon von dem Mycel irgend eines Pilzes durchzogen sind, von den Käfern angebohrt werden und daß dieses Mycel eben in den Fraßgängen u. s. w. zu Ambrosia auswächst. Dies ist indessen nicht der Fall. Das Mycel, aus welchem die Ambrosia hervorwächst, breitet sich nur wenige Millimeter um den Fraßgang aus; in größerer Entfernung ist das Holz mycelfrei. Es kann demnach keinem Zweifel unterliegen — wie auch Hubbard schon annimmt — daß der ambrosiabildende Pilz von den Käfern selbst verbreitet wird.

3) Die ambrosiabildenden Pilze sind allverbreitete holzbewohnende Pilze, nämlich Arten der Gattung Ceratostomella — der gleichen Gattung, auf welche die sogenannte Blaufäule der Kiefern- und anderer Nadelhölzer zurückgeführt wird.

Eine auffallende Erscheinung der Fraßgänge von Xyloterus lineatus ist, daß darin mit größter Regelmäßigkeit eigentümliche Konidienfruktifikationen auftreten, welche die Höhlungen der Bohrlöcher bis nahe an die Wiegen oder in dieselben hinein erfüllen.

Es sind dies die charakteristischen Konidienträger der Stilbaceengattung Graphium.

Ich fand dieselben nicht nur in den Fraßgängen von X. lineatus — hier in größter Menge — sondern auch in jenen von Xyloborus dispar, und von Xyloterus domesticus.

Die große Regelmäßigkeit, mit welcher diese Graphium-Fruchtkörper zu finden sind, ließ schon vermuten, daß dieselben zu dem Ambrosia bildenden Pilz in einer gewissen Beziehung stehen. Folgende Beobachtungen bestätigen diese Annahme:

a) In einzelnen Wiegen, welche mit Ambrosia dicht besetzt waren, fanden sich bei näherer mikroskopischer Untersuchung Graphium-Fruchtkörper, welche aber in der Entwickelung stehen geblieben waren (häufig war nur die dunkel gefärbte Säule des Konidienträgers entwickelt), sie entsprangen dem gleichen Mycel wie die Ambrosiafäden.

b) Holzstückchen aus der Nachbarschaft von Fraßgängen (von X. lineatus) mäßig feucht gehalten, bedecken sich nach kurzer Zeit mit dem stecknadelförmigen Konidienträger von Graphium.

Daneben treten Cladosporium-artige Konidienbildungen auf, welche — in vollkommen übereinstimmender Weise — auch aus Graphium-Konidien direkt erzogen wurden.

c) Aus Graphium-Konidien wurde im hängenden Tropfen ein Mycel erzogen, welches unter gewissen — nicht näher ermittelten — Bedingungen riesenzellenartige Bildungen lieferte, welche durchaus mit den Ambrosiazellreihen übereinstimmten.

Möglicherweise sind also die Ambrosiazellen nichts anderes als Riesenzellen, von welchen bekannt ist, daß sie unter gewissen Umständen ihre Fähigkeit weiterzuwachsen eingebüßt haben. Dies würde erklären, warum die Ambrosiazellen nicht zur Keimung zu bringen sind.

Daß schließlich die Graphium-Fruchtkörper eine Nebenfruchtform der Ceratostomella-Arten darstellen, ergab sich aus verschiedenen meiner Reinkulturen. Dieselben — auf Fichtenholz — zeigten wochenlang nur Graphium-Träger; im weiteren Verlauf bildeten sich neben dem letzteren vereinzelt auch Perithecien einer Ceratostomella (auf deren nähere Bestimmung ich einstweilen verzichtet habe, da die Systematik der Ceratostomella-Arten [und ihrer Nebenfruchtformen] Gegenstand einer speziellen Untersuchung ist, welche zurzeit im Forstbotanischen Institut der Universität München ausgeführt wird).

Ich möchte übrigens nicht unterlassen zu erwähnen, daß ich vereinzelt auch in Fraßgängen und Wiegen Ceratostomella-Perithecien beobachtete. Schließlich sei noch daran erinnert, daß Hedgcock[1]) in seiner Untersuchung über holzverfärbende Pilze mitteilt, er habe aus dem Pilzbeleg der Fraßgänge von holzbewohnenden Borkenkäfern Graphium- und Ceratostomella-Fruchtkörper erzogen.

Daß die ambrosiabildenden Pilze nicht an bestimmte Nährpflanzen gebunden sind, sondern auf beliebigen Bäumen wachsen können, geht aus folgendem Versuch hervor: Graphium-Sporen von Fichte (aus Fraßgängen von X. lineatus) wurden auf Ahornholz gesät und ent-

1) Hedgcock, Studies upon some chromogenic fungi, which discolor wood. (Seventeenth Ann. Rep. Missouri Bot. Gard. 1906. p. 59—114.)

wickelten hier reichlich Graphium-Konidienträger, sowie Ceratostomella-Fruchtkörper.

4) Die Infektion des Holzes mit dem ambrosiabildenden Pilz erfolgt durch die Käfer selbst. Letztere bringen auch den Pilz mit, wenn sie frisches Holz anfliegen und sich hier einbohren.

Die in den Fraßgängen massenhaft sich bildenden Konidienträger von Graphium sind von größter Bedeutung für die Verbreitung des Ambrosiapilzes. Die Käfer streifen die kugeligen Konidientropfen ab und tragen auf diese Weise unbewußt Konidien überall dahin, wo sie neue Fraßgänge oder Larvenwiegen bohren. Dies ging aus folgendem Versuch hervor. Ich brachte eine Anzahl von Käfern von X. lineatus auf sterilisiertes Brot. Nach einiger Zeit waren massenhaft Kulturen von Graphium zu sehen. Die Infektion neu anzubohrender Bäume erfolgt offenbar in gleicher Weise. Die den alten Stamm verlassenden Käfer behaften sich mit Graphium-Konidien und streifen diese, indem sie den neuen Stamm anbohren, wieder ab.

Die Verbreitung des Pilzes erfolgt also höchst wahrscheinlich nur passiv durch die Käfer und bedarf es wohl zur Anlage der Pilzkulturen keines höheren Instinktes, wie wir einen solchen bei den pilzzüchtenden Ameisen annehmen müssen.

Noch manche Frage, wie genaue Bestimmung der die ambrosiabildenden Pilze, Bedingungen, unter welchen die Ambrosiabildung zustande kommt, u. a., harren der näheren Untersuchung. Dazu bedarf es indessen voraussichtlich der Arbeit mehrerer Jahre.

Die obenstehende vorläufige Mitteilung sollte nur eine allgemeine Orientierung geben, soweit dies bisher möglich ist. Es schien mir aber angebracht, die bisher gewonnenen Resultate bekanntzugeben, nachdem diese Fragen (wie mir kürzlich bekannt wurde) von verschiedenen anderen Seiten in Angriff genommen worden sind.

Originalreferate über Kongresse.

Vereinigung der Vertreter für angewandte Botanik, Tagung in Dresden am 10. September 1907.

Ueber die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs und ähnlicher Stoffe auf den Boden.

Von Dr. **Kurt Störmer**,

stellvertr. Leiter der bot. Abteilung und der Versuchsstation für Pflanzenkrankenheiten in der Agrikultur-chemischen Kontrollstation Halle a. S.

Zusammengefaßt soll hier der Inhalt des von mir gehaltenen Vortrags referiert werden, um meine neuen Resultate zweijähriger Untersuchungen über die Schwefelkohlenstofffrage einem weiteren Kreise bekannt zu geben. Das Referat soll zugleich als vorläufige Mitteilung für eine ausführlichere Darlegung dienen, die binnen kurzem in diesen Blättern mit ausführlichen Tabellen folgen wird.

In meinem Vortrag habe ich unter Angabe von Zahlenmaterial zunächst dargetan, daß alle Giftstoffe in letzter Linie eine ertragssteigernde Wirkung auf den Boden ausüben, wenn man sie einige Monate vor dem

Anbau von Kulturpflanzen dem Boden einverleibt. Bisher ist die Erntesteigerung zahlenmäßig bewiesen für Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Aether, Benzol, Wasserstoffsuperoxyd, arsenige Säure und einige metallische Gifte, durch eigene Vegetationsversuche ergänzte ich diese Reihe mit Tetrachlorkohlenstoff, Toluol, Xylol, Phenol, o-Kresol und m-Kresol. Da diese Stoffe schon in sehr geringer Konzentration höhere Pflanzen abtöten, so ist nach ihrer Anwendung im Boden Pflanzenwachstum nur möglich, wenn sie in irgend einer Weise wieder aus dem Boden verschwinden. Das geschieht bei den flüchtigen Giften durch Verdunstung, bei den Metalloxyden durch Festlegung und bei solchen Stoffen wie Karbolsäure, Kresole etc. durch Zersetzung durch solche Bakterien, die diese Stoffe bei Gegenwart von Kalk oder Soda als Kohlenstoffquelle zu benützen vermögen. Unter Demonstration von Kulturen habe ich in dem Vortrag darauf hingewiesen, daß der Benzolring dann als alleinige Kohlenstoffquelle von einer Reihe von Bakterienarten in gleicher Weise, wie etwa Traubenzucker, benützt werden kann, wenn er mit ein oder mehreren Methyl- bezw. Hydroxylgruppen „belastet" ist. Seine Aufspaltung und Oxydation erfolgt dann anscheinend mit größter Leichtigkeit. Rohkulturen mit Toluol, Xylol, Phenol, o-, m- oder p-Kresol, auch Leuchtgas, als alleinige Kohlenstoffquelle bei ausschließlicher Gegenwart von Mineralstoffen — N als Ammonsalz — sind bei Beimpfung mit Boden in geeigneten Nährlösungen daher äußerst leicht zu erhalten, wenn die Konzentration des Giftes anfänglich möglichst niedrig, 1:10000 etwa, gewählt wird. Daraus lassen sich die entsprechenden Reinkulturen auf Agar oder geeigneter Gelatine ganz unschwierig erhalten, die den Oxydationsprozeß an den genannten Giftstoffen ebenso exakt ausführen.

Als Nährstoffe kommen nach meinen bisherigen Versuchen nicht in Betracht: Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform; Benzol und Aether möchte ich noch als fraglich hinstellen. Für die Oxydation des Aethers in Berührung mit dem Boden spricht die bedeutende Steigerung der CO_2-Produktion. Da nun die erstgenannten 3 Stoffe die Ertragssteigerung der nachgebauten Pflanzen in besonderem Maße hervorrufen, so ist damit bewiesen, daß die erste erhöhende Wirkung unabhängig davon ist, ob ein Gift als Bakteriennahrung benützt werden kann oder nicht.

Alle genannten Stoffe mit einziger Ausnahme des CS_2 sind schwefelfrei; sie wirken aber trotzdem ebenso günstig oder günstiger als dieser, so daß hierdurch bewiesen ist, daß die bei Anwendung von Schwefelkohlenstoff auch nach meinen Analysen eintretende übrigens sehr geringfügige Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure (Mineralisierungstheorie) nicht die hauptsächliche Ursache jener Ertragsteigerung sein kann.

Da die Ernteerhöhung infolge der Anwendung der Gifte stets bebegleitet ist von einer zahlenmäßig bewiesenen Mehrernte an Stickstoff, also jenes Nährstoffes, der in allen Ackerböden fast stets im Minimum ist, so ist die Ertragsteigerung auf eine Stickstoffwirkung zurückzuführen. Eine daneben eventuell in Frage kommende Anregung (Reiztheorie) leugne ich nicht, habe sie auch nie geleugnet, halte sie aber solange für unbewiesen, als nicht neues Untersuchungsmaterial zu dieser Frage beschafft und der überaus sorgfältig ausgeführte negative Versuch von Moritz und Scherpe mit sterilisierten Erden widerlegt ist. Die ganze Gift-

frage ist somit dahin zu präzisieren: Wie kommt die höhere Stickstoffernte nach einer Behandlung des Bodens mit Giftstoffen zu stande?

Hiltner und ich haben angesichts der jetzt auch von anderer Seite bestätigten ungeheueren Vermehrung der Bodenbakterien nach einer CS_2-Behandlung die Theorie der „indirekt bakteriellen Wirkung“ (Behrens) aufgestellt, die von einer Gleichgewichtsstörung der Bakterienflora ausging und annahm, daß dadurch einzelnen Bakterienarten der Weg zu sehr starker Vermehrung geöffnet werde, die notwendigerweise zu erhöhten N-Umsetzungen im Boden führen müsse. Wir ließen es dahin gestellt, ob N-Aufschließung oder N-Sammlung in Frage komme. Auch die Beseitigung von Stoffwechselprodukten wurde ins Auge gefaßt. Diese letztere Theorie hat namentlich Hiltner[1]) verfolgt. Die erhöhte N-Sammlung durch Azotobacter nach CS_2-Behandlung wird besonders von Krüger und Heinze vertreten, die bei N-Bestimmungen von Felderden einen höheren N-Gehalt nach Karbosulfurierung feststellen konnten. Krüger weist allerdings schon darauf hin, daß die Ursache für diesen erhöhten N-Gehalt auch darin gefunden werden könne, daß CS_2 die Nitrifikation für lange Zeit unterdrückt, wodurch eine geringere Salpeterauswaschung bedingt wird. Meine Analysen an Topferden ohne Auswaschung bewiesen mir einwandfrei, daß der N-Gehalt des Bodens nach Behandlung mit CS_2 oder einem anderen der genannten Gifte innerhalb eines Zeitraums von 9 Monaten vollkommen derselbe geblieben war. Diese Tatsache, sowie das mit Hilfe der Remy-Löhnis-Kultur nachgewiesene weit geringere N-Sammlungsvermögen derselben Böden, wobei Azotobacter ganz verschwand, erlauben den sicheren Schluß, daß N-Sammlung nicht die Ursache der Ertragssteigerung nach Giftbehandlung sein kann.

Die schon von den Franzosen bewiesene anfängliche Unterdrückung der Nitrifikation konnte auch ich direkt analytisch, sowie sehr schön mit Hilfe der Remy-Löhnis-Kultur bestätigen. Diese Giftwirkung, die die verminderte Auswaschung des Salpeters auf dem Felde zur Folge hat, kann wohl einen Teil der Ertragssteigerung auf freiem Lande erklären, ist aber deshalb nicht als hauptsächliche Erklärung der Giftwirkung zulässig, weil die Ertragssteigerung ebenso exakt bei Topfversuchen eintritt, wo Auswaschung ausgeschlossen ist.

Nach alledem bleibt nur die vermehrte N-Aufschließung als Erklärung der N-Wirkung der Gifte übrig, und das Problem reduziert sich auf die Frage: Wodurch wird die erhöhte N-Aufschließung verursacht? Zweifellos durch die Bakterien; aber an welchen Stoffen betätigen sie sich? Daß die Bakterien die Ursache hierfür sind, kann angesichts der ungeheuren Vermehrung, die alle Giftstoffe nach längerer oder kürzerer Zeit hervorrufen, nicht bezweifeft werden. Einerseits ist die Vermehrung zwar dadurch verursacht, daß ein Teil der Giftstoffe sehr bekömmliche Nährstoffe für gewisse Bakterienarten sind, aber da andererseits auch die nicht verzehrbaren Stoffe die gleiche Anschwellung der Bakterienzahl hervorrufen, so muß wiederum geschlossen werden, daß die Vermehrung noch durch andere Ursachen bedingt sein muß, die aufzusuchen sind. Bessere Nährböden ermöglichten mir den Nachweis, daß normaler Ackerboden in 1 g 20—40 Millionen Bakterien je nach Jahreszeit enthält, deren Menge bis auf 400 Millionen in 1 g nach Giftbehandlung steigt. Am höchsten waren die Keimmengen nach Schwefelkohlenstoffbehandlung

1) Dresdner Vortrag, 10. September 1907.

und bei Zugabe solcher Stoffe, die als gute Nährstoffe zu dienen vermögen, namentlich Karbolsäure.

Die Wirkung der erhöhten Stickstoffaufschließung muß, wenn sie zur Erntesteigerung führen soll, sich auch analytisch durch Bestimmung der löslichen N-Formen, also Salpeter und Ammoniak, nachweisen lassen. Allerdings sind nur geringe absolute Unterschiede zu erwarten, da die gesamte so auffallende CS_2-Wirkung eines Jahres am Ende nur auf der Mehrentnahme von 3—5 mg N aus 100 g Boden beruht. Dieser Nachweis gelang vollständig. Es zeigte sich, daß der Gehalt an mineralischem Stickstoff nach CS_2-Behandlung im Vergleich zu unbehandelter Erde von 100 auf 112 bis 140 anstieg.

Mindestens eine und wie ich wohl behaupten darf, die hauptsächlichste Lösung des Schwefelkohlenstoffproblems bringt auf diesem Punkte der Erörterungen die Beantwortung der Frage: Aus welcher Quelle stammt dieser vermehrte lösliche Stickstoff? Die Lösung ist sehr einfach: er stammt aus den Leibern der von den Giften abgetöteten Organismen. Als solche Organismen kommen Angehörige fast aller Pflanzen- und Tierklassen in Frage. Mäuse, Würmer, Insekten und Insektenlarven, Spinnen, Milben, Wurzelläuse, Protozoen sind ebenso darunter vertreten wie höhere Pflanzen, Samen, Rhizome und Wurzeln derselben, Moose, Algen, Pilze und Bakterien. Die Abtötung tierischer Lebewesen wird niemand bezweifeln, für Amöben z. B., die auf meinem Nährboden zum Auszählen der Bakterien direkt wachsen, konnte ich auf der Platte nachweisen, daß sie aus CS_2-behandeltem Boden verschwunden sind. Weiter demonstrierte ich behandelte und unbehandelte Erde, letztere mit üppiger Entwickelung von Moosen und Algen, die in ersterer bis auf einige Cyanophyceen verschwunden waren. Die Vernichtung von Unkräutern und Pilzen wurde schon 1902 in Dahlem beobachtet, und für Bakterien liegen zahlenmäßige Belege vor. Wenn man sich daran erinnert, daß das lebende Plasma im Boden, solange es lebt, die Fähigkeit hat, der Fäulnis zu widerstehen, gleichviel ob es im ruhenden oder vegetativen Zustande sich befindet, daß es aber sofort der Zersetzung durch Mikroben unterliegt, wenn es abgetötet ist, so bedarf es eigentlich keiner weiteren Beweise, um das Zutreffen dieser Lösung der Giftfrage einzusehen. Doch auch diese lassen sich erbringen. Die Lösung enthält nämlich zugleich die wesentlichste Beantwortung der Frage nach der Ursache jener starken Bakterienentwickelung auch nach solchen Giften, die nicht zugleich Bakteriennährstoffe sind. Die Vermehrung ist nur die Folge der Abtötung von zahllosen Organismen, die sofort, nachdem die Konzentration des Giftes soweit zurückgegangen ist, daß eine Entwickelung von Bakterien stattfinden kann, der Zersetzung durch diese Mikroben unterliegen. Es müssen also die nach CS_2, nach Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff u. s. w. auftretenden Bakterienarten die Fähigkeit haben, Zellsubstanz zu zersetzen. Das ist in der Tat in ausgesprochenem Maß der Fall. Ich habe sehr viele der auftretenden und für jeden Stoff spezifischen Bakterienarten genau untersucht, ohne eine andere hervortretende Eigenschaft an ihnen entdecken zu können, als die Fähigkeit, tierische oder pflanzliche stickstoffhaltige Substanzen zu zersetzen. Namentlich zeichneten sie sich meist durch das Vermögen aus, auch derartige widerstandsfähigere Körper wie Chitin oder Pilzsubstanz als ausschließliche Nährstoffquelle benützen zu können. Dabei war auch zu beobachten, daß diese Zersetzung nicht bei jeder Art zur Abspaltung von Ammoniak führte, sondern daß sich auch Arten an der starken Vermehrung beteiligten, die z. B. bei der Chitinzersetzung oder

der Zersetzung von gemahlenen Mehlwürmern Ammoniak festlegten. Hierin liegt ein wertvoller Einblick in die Bodenbiologie und zugleich die Erklärung für die meist zu machende Beobachtung, daß CS_2, zu demselben Boden und in derselben Menge gegeben, eine verschiedene Ernteerhöhung hervorrufen kann, manchmal stärker, manchmal schwächer. Auch die Erklärung der anfänglichen Erntedepression ist meiner Meinung nach mit hierin zu suchen. Endlich wird dadurch auch seine mehrjährige Wirkung verständlicher; denn am Ende unterliegt auch der festgelegte N der weiteren Zersetzung. Natürlich ist für die längere Wirksamkeit auch die überhaupt schwere Zersetzbarkeit der in Betracht kommenden Stoffe eine wesentliche Ursache. Wie lange Zeiträume hierfür erforderlich sind, beweist die Beobachtung, daß die mit CS_2 behandelte Erde noch nach fast Jahresfrist ca. 100 Mill. Bakterien in 1 g Erde enthielt.

Erstaunlich ist ferner die Vielheit der auftretenden Arten. Ein und derselbe Stoff ruft durchaus nicht jedesmal die Entwickelung derselben Bakterienarten in demselben Boden hervor; im Gegenteil wird man immer neue Arten beobachten, aber stets nachweisbar ist die starke Erhöhung der Bakterienzahl und die Eigenschaft der auftretenden Arten, tierische oder pflanzliche Substanzen zersetzen zu können. Offenbar hängt es vom Zufall ab, welche Arten gerade zur Vermehrung gelangen; selbstverständlich sind es stets Arten, die dem speziellen Gifte gegenüber eine besondere, oft erstaunlich große Widerstandsfähigkeit (Giftfestigkeit) besitzen. Das ließ sich namentlich beim Schwefelkohlenstoff sehr schön beobachten. Die Vielheit der auftretenden Arten hat schon Maßen und Behn zu der Erklärung veranlaßt, daß wenn Bakterien überhaupt bei der Begünstigung der Vegetation durch CS_2 eine Rolle spielen, ganz verschiedene Gruppen von Bakterien die gleiche günstige Wirkung entfalten müßten. Und in der Tat ist es auch so. Unter dem Einfluß des Tetrachlorkohlenstoffs oder Benzols vermehrte sich z. B. in ungeheurer Weise die Streptothrix (Oospora) odorifera, die ein ganz vorzüglicher Chitin- und Pilzcellulose- resp. Pilzchitinzersetzer ist. Sie ist auch die einzige von allen untersuchten Reinkulturen, die sich von Bodenhumus noch ernähren konnte, dem gegenüber alle anderen Arten versagten. Die Aufschließung dieses Stoffes kommt demnach zur Erklärung der Giftwirkung nicht in Frage.

Die Schwefelkohlenstoffwirkung und die Wirkung der Gifte überhaupt ist somit zu erklären als eine Stickstoffwirkung, bedingt durch die Abtötung lebenden Plasmas, das für den Boden erst aus dem Stadium des toten Stickstoffkapitals herauskommt, wenn es zersetzt werden kann und dadurch den Pflanzen zugänglich wird. Je nach der Menge des angewandten Giftes, namentlich jener, die leicht flüchtig sind, wird auch die Abtötung der Organismen eine verschiedene sein und dies erklärt z. B. die von Moritz und Scherpe nachgewiesenen Parallele zwischen gegebener Schwefelkohlenmenge und Ernteertrag. Die Dauer der Wirkung endlich ist zurückzuführen auf die Kompliziertheit der Zersetzungsvorgänge.

Referate.

Wahl, Bruno, Ueber einen eigenartigen Befall der Gerste durch die Halmfliege. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 750.)

Aus Kelchsau bei Hopfgarten in Nordtirol (Seehöhe 900—1000 m) stammende Gerstenpflanzen zeigten neben dem typischen Befall der Halmfliege aber auch ganz eigenartige Formen, die durch diesen Schädling hervorgerufen waren; schon bei dem typischen Befall ließ sich unter dem Einfluß der Beschädigung eine gewisse Verkürzung der Halmlänge, insbesondere des obereren Halmgliedes, erkennen. Eine Reihe von Pflanzen zeigte aber eine außergewöhnliche Verkürzung des obersten Halmgliedes, ja die Ausbildung desselben war vielfach völlig unterdrückt, so daß die Aehre unmittelbar dem Halmknoten aufsaß. Eine weitere Abnormität zeigten andere Pflanzen, indem bei ihnen nicht nur die obersten Halmknoten sehr nahe aneinander gerückt, sondern miteinander verschmolzen waren, so daß an dem anscheinend einen obersten Halmknoten mehrere (2—4) Blattscheiden entsprangen. Die Unterdrückung der Halmentwickelung ging bei einzelnen Pflanzen so weit, daß nur ein einziger Halmknoten erkennbar war, der in wenigen Centimetern Entfernung über der Wurzel sich fand und dem die Aehre unmittelbar aufsaß. Der extremste Fall der Deformation der Gerstenpflanze durch die Halmfliege war: über der Wurzel ein 1 cm langer Halm, ein einziger Halmknoten, welcher 4 Blattscheiden trägt und und innerhalb dieser, dem Halmknoten unmittelbar aufsitzend, die Aehre. Im Gegensatz zum Längenwachstum war das Dickenwachstum der befallenen Pflanzen nicht gestört, die Halme waren sogar eher dicker als die gesunden. Bei allen befallenen Pflanzen waren die Blütenteile normal angelegt, doch kamen sie naturgemäß je nach der größeren oder geringeren Deformation der befallenen Pflanze nicht zur vollen Entwickelung. Da an vielen Pflanzen eine mehr oder minder starke Unterdrückung des obersten Halmgliedes zu bemerken war, also eine Unterdrückung jener Stelle der Pflanzen, welche gemeiniglich von den Larven der Halmfliege benagt zu werden pflegt, so konnte dadurch der Schädling die genügende Nahrung nicht in gewohnter Weise finden, und mußte in anderer Weise Ersatz suchen. Es war daher bei fast allen kranken Pflanzen die Aehre mehr oder weniger angefressen, und zwar meist einseitig. Die Puppe der Halmfliege lag statt normal an der Basis des obersten Halmgliedes, fast ausnahmslos in dem befressenen Teil der Aehre. Die beschädigten Blüten entbehrten fast immer der Grannen, aber auch die Spelzen und selbst die eine Seite der Körner waren angenagt. In den abnormsten Fällen war von der Aehre überhaupt nur mehr die Aehrenspindel erhalten und auch diese war faulig, wie gleicherweise auch die innersten Blattscheiden. Als Ursache der bis jetzt noch nicht beobachteten Mißbildung ist die Halmfliege anzusehen. Die Ursache dieses außergewöhnlichen Grades der Mißbildung der Pflanzen infolge des Befalles mit Halmfliegenlarven mußte unschwer in der durch die ungünstige, abnorme Witterung bedingten späten Anbauzeit der Gerste zu suchen sein. Die Halmfliege tritt normal von Mitte Mai an auf, während die Gerste statt im April erst anfangs Juni

angebaut wurde. Als die Halmfliege auftrat und ihre Eier an die Gerstenpflanzen abzulegen begann, waren auch letztere noch völlig unentwickelt, wogegen sie sonst bei normaler Anbauzeit erst mit Eiern belegt werden, wenn sie schon eine gewisse Höhe erreicht haben. Die Larven, welche aus relativ später abgelegten Eiern ausschlüpfen, verursachen eine entsprechend geringere Deformation der Pflanzen und auf diese Weise mußte dieser merkwürdige Fall seine natürliche Erklärung finden.

Stift (Wien).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 30. Dezember 1907.

Referate.

Molisch, Hans, Die Purpurbakterien nach neueren Untersuchungen. 95 p. mit 4 Tafeln. Jena (Gustav Fischer) 1907.

Verf. liefert hier eine einheitliche Bearbeitung der höchst interessanten Purpurbakterien auf Grund eigener Untersuchungen, die zu vollständig neuen und für die Physiologie der Bakterien bedeutungsvollen Ergebnissen führten. Auf die Details kann in einem Referat natürlich nicht eingegangen werden, und sind dieselben im Original nachzulesen.

Im I. Kapitel behandelt Verf. die Geschichte und weite Verbreitung der Purpurbakterien in der freien Natur und macht uns mit einer einfachen und bequemen Methode vertraut, diese Organismen jederzeit im Laboratorium im Großen zu erhalten. Dazu finden hohe Standcylinder Verwendung, in denen unter hoher Flußwasser- oder Meerwasserschicht organische Substanz der verschiedensten Herkunft der spontanen Zersetzung im Sonnenlichte überlassen wird. Die dabei anwachsenden Purpurbakterien zerfallen in zwei Gruppen: Die Vertreter der einen Gruppe lagern in ihrem Körper regelmäßig Schwefelkörnchen ab, während die Vertreter der zweiten Gruppe diese Fähigkeit niemals besitzen.

Das II. Kapitel berichtet über die gelungene Reinzucht unter Verwendung eines einfachen Agar- oder Gelatinenährbodens in Verbindung mit der Schüttelkulturmethode oder der Kultur unter Deckglas bei Luftabschluß durch Terpentinharz. Auf diese Weise gelang die Reinzucht des vom Verf. hier eingehend beschriebenen Rhodobacillus palustris aus Sumpf- und Flußwasser und des marinen Rhodobacterium capsulatum aus Triester Hafenwasser mit faulender Zostera. Eine eingehendere Beschreibung finden auch die nicht reingezüchteten Purpurbakterien: Rhodocapsa suspensa[1]), Rhodothece pendens[1]), Rhodococcus capsulatus, Rhodococcus minor, Rhodovibrio parvus, Rhodocystis gelatinosa, Rhodonostoc capsulatum, Rhodospirillum photometricum, Rhodospirillum giganteum und Rhodospirillum rubrum (Esmarch) Molisch. Die Nomenklatur nach Migula ist hier streng durchgeführt. Verf. faßt diese Mikroorganismen in einer physiologischen Gruppe zusammen, die sich in 2 Familien gliedert.

Nach Verf. bilden die Purpurbakterien die

„Ordnung Rhodobacteria,

Bakterien, deren Zellinhalt durch Bakteriopurpurin und (soweit untersucht) durch Bakteriochlorin rosa, rot, violett oder karminrot gefärbt ist.

A. Zellen besitzen die Fähigkeit, freien Schwefel in Form von Kügelchen abzulagern.

I. Familie Thiorhodaceae

a) Zellen zu Familien vereinigt.

α) Teilung der Zellen nach 3 Richtungen des Raumes . . . . 1. Unterfam. Thiocapsaceae

1) Vergl. diese Zeitschrift. Bd. XVIII. 1907. p. 329 u. 330.

β) Teilung der Zellen zuerst nach 3, dann nach 2 Richtungen des Raumes . . 2. Unterfam. Lamprocystaceae

γ) Teilung der Zellen nach 2 Richtungen des Raumes . . . . 3. Unterfam. Thiopediaceae

δ) Teilung der Zellen nach 1 Richtung des Raumes . . 4. Unterfam. Amoebobacteriaceae

b) Zellen frei.

α) Zellen zeitlebens schwärmfähig. 5. Unterfam. Chromatiaceae

β) Nicht oder nicht zeitlebens schwärmfähig . . . . 6. Unterfam. Rhodocapsaceae

B. Zellen besitzen nicht die Fähigkeit, freien Schwefel im Zellinhalt in Form von Kügelchen abzulagern. II. Familie Athiorhodaceae.

a) Zellen zu Familien vereinigt

Teilung der Zellen nach einer Richtung des Raumes.

α) Zellen stäbchenartig, zuweilen in einer gemeinsamen Schleimhülle eingebettet Rhodocystis

β) Zellen rund oder Kurzstäbchen, perlschnurartig aneinander gereiht, jeder Faden von einer Schleimhülle umgeben Rhodonostoc

b) Zellen frei.

Teilung der Zellen nach einer Richtung des Raumes.

α) Zellen kugelig, unbeweglich . . . Rhodococcus

β) Zellen gerade Stäbchen, unbeweglich Rhodobacterium

γ) Zellen Stäbchen, beweglich . . . . Rhodobacillus

δ) Zellen kurz, bohnen- oder kommaartig gekrümmt, mit einer endständigen Geißel, lebhaft beweglich . . . . . Rhodovibrio

ε) Zellen, schraubig gekrümmt, mit endständigen Geißeln oder Geißelbüscheln, lebhaft beweglich . . . . Rhodospirillum."

Im III. Kapitel schildert uns Verf. die Purpurbakterien in ihren Beziehungen zum Licht. Dabei ergab sich ein indifferentes Verhalten derselben gegen die Richtung des Lichtstrahles und nur eine ausnahmsweise auftretende positive Phototaxis. Weiter konnte auf Grund der bei Lichtintensitätsänderungen auftretenden Schreckbewegungen dieser Bakterien gefolgert werden, daß die Lichtempfindlichkeit derselben mit dem roten Farbstoff in Beziehung steht. Die Lichtempfindlichkeit der Purpurbakterien erstreckt sich auf alle sichtbaren und auch auf unsichtbare, ultrarote Strahlen. Weiter ergibt sich aus den mit äußerst empfindlichen Proben ausgeführten Untersuchungen des Verf. über eine eventuelle O-Abscheidung unter dem Einflusse des Lichtes die Tatsache, daß die Purpurbakterien die Kohlensäure unter O-Abspaltung nicht zu assimilieren vermögen. Mithin können die Farbstoffe dieser Bakterien auch nicht mit dem Chlorophyll gleichgestellt werden.

Das IV. Kapitel beschäftigt sich mit dem Sauerstoffbedürfnis der Purpurbakterien. Dieses ist im allgemeinen sehr gering, weist aber dennoch bei den einzelnen Arten Unterschiede auf.

Im V. Kapitel berichtet der Verf. über chemotaktische Versuche mit verschiedenen Säuren und Salzen, Dextrin, Rohrzucker, Pepton und Schwefelwasserstoff. Den untersuchten Verbindungen gegenüber wiesen die verschiedenen Purpurbakterien ein unterschiedliches Verhalten auf.

Kapitel VI des Buches bringt Untersuchungen über die Ernährung der Purpurbakterien. Im allgemeinen verarbeiten dieselben organische Nahrung in der Reinkultur sowohl im Lichte als auch im Dunkeln, während dies unter natürlichen Verhältnissen nur im Lichte möglich ist. Im übrigen bedürfen die Purpurbakterien organischer Nahrung. Außerdem ist im allgemeinen zur reichlichen Entwickelung die gleichzeitige Darreichung von Pepton und einem Kohlehydrat notwendig.

Das letzte Kapitel ist den Farbstoffen der Purpurbakterien gewidmet. Verf. erhielt durch Extraktion von Massenkulturen mit Alkohol einen grünen Farbstoff, das „Bakteriochlorin", dessen alkoholische Lösung sich von der des Chlorophylls durch die fast gänzlich mangelnde Fluoreszenz und durch ein völlig anderes spektroskopisches Verhalten unterscheidet. Mit Benzin, Olivenöl, Terpentinöl und Chloroform kann das Bakteriochlorin aus der alkoholischen Lösung ausgeschüttelt werden.

Den roten Farbstoff, das „Bakteriopurpurin", gewann Verf. durch Ausziehen der mit Alkohol vom Bakteriochlorin befreiten Purpurbakterien mit Schwefelkohlenstoff. Es löst sich darin mit karminroter, in Chloroform mit orangeroter oder braunroter Farbe. Die spektroskopische Untersuchung des Bakteriopurpurins verschiedener Purpurbakterienarten führt zur Unterscheidung von zwei Modifikationen dieses Farbstoffes, α und β. Verf. gibt genaue Aufschlüsse über die Lage und Ausdehnung der Spektren von den Farbstoffen der Purpurbakterien in den verschiedenen Lösungsmitteln. Aus den mit lebenden Bakterien angestellten Spektraluntersuchungen geht hervor, daß durch Deckung der Spektren des Bakteriochlorins und des Bakteriopurpurins (in CS_2) das Spektrum der lebenden Bakterien hervorgeht. Für letzteres ist der Streifen auf der Fraunhoferschen Linie D charakteristisch. Dieser typische Streifen kommt aber nur dem Bakteriochlorin zu.

Verf. gibt noch Wege an, um unter dem Mikroskop die Gegenwart beider Farbstoffe leicht nachweisen zu können. Das Bakteriopurpurin scheidet sich bei der Behandlung der Purpurbakterien mit Alkohol unter dem Deckgläschen in lachsroten oder bräunlichen Kristallen meistens ab, während das Bakteriochlorin in Tröpfchenform sichtbar wird. Die Bakteriopurpurinkristalle sind in Wasser und Glycerin unlöslich, in absolutem Alkohol schwer löslich und in Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Aether leicht löslich. Mit reiner Schwefelsäure behandelt zeigen sie eine tiefindogoblaue bis blauviolette Färbung. Mit konzentrierter Salpetersäure nehmen sie eine vorübergehende Blaufärbung, mit Jodjodkaliumlösung eine trübe schmutzige Farbe an. Verf. weist mit Nachdruck auf die große Aehnlichkeit des Bakteriopurpurins mit Karotin hin und spricht die Vermutung aus, es könnte sich dabei um einen zur Gruppe Karotin gehörigen Farbstoff handeln.

Dann macht Verf. noch Bemerkungen über die gleichmäßige Verteilung der Farbstoffe in den Zellen der Purpurbakterien und bespricht die Bedeutung derselben für die Bakterien. Aus den Ernährungsversuchen mit den Purpurbakterien geht hervor, daß es sich um eine neue Art von Photosynthese handelt, bei der organische Substanz im Lichte assimiliert wird. Vielleicht wirken dabei die Farbstoffe analog, wie Chlorophyll und Karotin bei der Kohlensäureassimilation.

Dem Buche sind 4 Tafeln beigegeben, von denen zwei in gelungenen Mikrophotogrammen die morphologisohen Verhältnisse der Purpurbakterien darstellen. Eine Tafel zeigt die Bakteriopurpurinkriställchen in farbiger Wiedergabe und die Farbe der Lösungen beider Farbstoffe. Die letzte Tafel enthält die Absorptionsspektren von Chlorophyll-, Bakteriochlorin-, α- und β-Bakteriopurpurin-Lösungen in verschiedenen Lösungsmitteln und von lebenden Purpurbakterien. Fuhrmann (Graz).

Miehe, H., Die Bakterien und ihre Bedeutung im praktischen Leben. (Bd. XII der von Paul Herre herausgegebenen Sammlung „Wissenschaft und Bildung“. 133 p.) Leipzig (Quelle und Meyer) 1907. geb. 1,25 M.

Die populär gehaltene Schrift ähnelt in Anlage und Ausführung dem kleinen Werke von Migula (Die Bakterien, Webers Katechismen, 2. Aufl. 1903). Wie dort, wird auch hier zunächst die historische Entwickelung der Bakteriologie, die Morphologie und Physiologie der Bakterien, die Untersuchungsmethoden und die Systematik in Kürze behandelt. In dem zuletzt genannten Kapitel führt Verf. eine aus den Systemen A. Fischers und Migulas kombinierte Einteilung vor. In etwas größerer Ausführlichkeit als in dem genannten älteren Werke gelangt weiterhin die Verbreitung der Bakterien sowie deren nützliche Rolle in der Natur, in der Landwirtschaft und in der Technik zur Besprechung. Die Erörterung der Krankheitserreger und der auf Bekämpfung und Vernichtung der Bakterien gerichteten Maßnahmen beschließt die Ausführungen, denen noch eine Anzahl Erläuterungen sowie einige Literaturnachweise als Anhang beigegeben sind. Außerdem enthält das Buch 31 zum Teil recht instruktive Abbildungen.

Wie gesagt, handelt es sich um eine populär gehaltene Schrift. Immerhin wäre zu wünschen gewesen, daß manche Unrichtigkeiten vermieden, manche wichtigen Forschungen der letzten Jahre nicht ganz unbeachtet gelassen worden wären.

So sollen (p. 11) nur 2 Millionen Mikrokokken 1 mg wiegen, in 1 g Käse aber 600 Milliarden Bakterien vorhanden sein (p. 86); die Berechnung der Gründüngungskosten (p. 80) entspricht nicht den tatsächlichen Verhältnissen; die Leguminosen sollen die Bakterienkolonieen in den Wurzelknöllchen auflösen und aussaugen (p. 81); vom Tetanustoxin ist nicht 0,025 mg (p. 104), sondern ca. 0,25 mg die für Menschen letale Dosis. Bei der Besprechung der Tuberkulose (p. 98) hätte ebenso wie bei der Erwähnung der Tuberkulinreaktion (p. 119) meines Erachtens mehr auf die neueren Erfahrungen Rücksicht genommen werden sollen. Daß die wasserstoffoxydierenden Bakterien „leider nicht in Reinkultur züchtbar“ seien (p. 33), ist unrichtig. Ebenso sind auch bei der Besprechung der Nitrifikation (p. 79) die in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten gar nicht berücksichtigt worden. Es wird da immer noch behauptet, daß es nicht klar sei, wie der Prozeß im Acker verlaufe. „Denn

einmal sind hier die entwickelungshemmenden Stoffe überall vorhanden und dann laufen beide Etappen nebeneinander, was im Experiment nicht nachzuahmen gelang." Die eine Angabe ist so irrig wie die andere. — Hoffentlich verschwinden bei einer Neuauflage diese und manche andere Mängel, so daß dann das Buch in vollem Umfange seinen Zweck erfüllen kann: der Allgemeinheit nützliche und zuverlässige Kenntnisse zu übermitteln. Löhnis (Leipzig).

Löhnis, Die Aufgaben der landwirtschaftlichen Bakteriologie. (Fühlings landw. Ztg. 1906. p. 821.)

Verf. präzisiert die Aufgaben der landwirtschaftlichen Bakteriologie in folgender Weise: „Sie hat die mannigfaltigen, wichtigen Umsetzungen, welche als Kreislauf des Stoffes bezeichnet werden können, in ihrem ursächlichen Zusammenhange zu erforschen, soweit sie nicht in das Gebiet der Pflanzen- und Tierproduktionslehre fallen; die landwirtschaftliche Bakteriologie ist die notwendige Ergänzung jener beiden Disziplinen". L. hält es mit vollem Recht für unumgänglich notwendig, daß die Landwirtschaft den Mittelpunkt aller agrikulturbakteriologischen Forschung bilden muß. Es wäre falsch, wenn etwa ein einseitiger botanischer Standpunkt bei den einschlägigen Arbeiten eingenommen werden würde.

Die speziell agrikulturbakteriologische Forschung hat sich auf die Bakteriologie der Futtermittel, der Milch- und Molkereiprodukte, des Düngers und des Bodens zu erstrecken. Verf. schildert in großen Umrissen die durch Organismentätigkeit auf diesen vier Gebieten bewirkten, landwirtschaftlich wichtigen und eines näheren Studiums werten Erscheinungen. Vogel (Bromberg).

Schneidewind, Meyer und **Münter,** Ueber Enzyme. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXV. 1906. p. 911.)

Die Arbeit beschäftigt sich vornehmlich mit der Isolierung der Enzyme und ist unter besonderer Berücksichtigung der Diastase durchgeführt worden. Zur Anwendung kamen ein von E. Merck-Darmstadt bezogenes reines Präparat und eine aus gekeimter Gerste hergestellte Diastaselösung. Hieraus wurden durch fraktionierte Fällung mit Alkohol und Aether verschiedene Produkte gewonnen und auf ihre Wirksamkeit geprüft. Die Versuche zeigten, daß Beziehungen zwischen dem Stickstoffgehalt und der enzymatischen Kraft der einzelnen Produkte nicht bestehen, daß aber Alkohol und Aether unverkennbar einen schädlichen Einfluß auf die Wirksamkeit der Diastase ausüben. Je länger die einzelnen Fällungen der Einwirkung des Alkohols und Aethers ausgesetzt waren, desto mehr verloren sie an Wirksamkeit. Beim Ausfällen der Diastase mit Alkohol und Aether tritt eine so erhebliche Schwächung ihrer Kraft ein, daß aus der Wirkung derart gewonnener Präparate Schlußfolgerungen auf die Wirksamkeit der in den Zellen der lebenden Organismen sich befindenden diastatischen Enzyme nicht gezogen werden können. Der sechste Teil der in der frischen Lösung enthaltenen Substanz hatte schon die gleiche Wirkung hervorgerufen wie das ausgefällte Produkt. Die weiteren Ergebnisse ihrer Versuche fassen die Verff., wie folgt, zusammen:

Einen sehr günstigen Einfluß auf die Enzyme übten Eiweißstoffe, Pepton und Asparagin aus; ob nun hierdurch, daß diese Körper die Diastase vor der Zersetzung durch proteolytische Enzyme, welche ihre

steten Begleiter sind, schützen, mag dahingestellt sein. Gegen diese Annahme spricht die günstige Wirkung der Amide.

Schwache Säuren, wie Essigsäure, Zitronensäure, übten in ganz kleinen Mengen (0,001 Proz.) einen geringen günstigen Einfluß auf die Wirkung der Diastase aus, sind aber schon in Mengen von 0,01 Proz. sehr schädlich.

Einen außerordentlich günstigen Einfluß auf die Wirkung der Diastase üben die Chloralkalien aus. Diese günstige Wirkung, speziell auch die des Chlornatriums auf das Wachstum der Pflanzen, wird man jedenfalls zum Teil zurückführen können auf den günstigen Einfluß, welchen die Chloralkalien auf die Lösung der Stärke durch die Enzyme auszuüben vermögen. In kleiuen Mengen wirken auch sehr günstig die Monophosphate und das Aluminiumsulfat; etwas größere Mengen (1—2 Proz.) von Monocalciumphosphat und Aluminiumsulfat vernichteten die Wirkung der Enzyme vollständig. Vogel (Bromberg).

Graziani, A., Contributo allo studio dell'enzima ossidante del latte. (Giornale d. R. Soc. Ital. d'Igiene. 1907. No. 4—5.)

Zahlreiche Methoden sind bis heute vorgeschlagen worden zur Unterscheidung roher Milch von gekochter, deren wichtigste die Storchsche ist.

Da die von den verschiedenen Forschern mit der Milch verschiedener Tiere erhaltenen Ergebnisse verschiedene Widersprüche aufwiesen, so verglich Verf. viele dieser verschiedenen Methoden untereinander sowie ihr Verhalten gegenüber der Milch der verschiedenen Tiere, wobei er zahlreiche Untersuchungen anstellte über die Eigenschaften des oxydierenden Enzyms, das er allgemeine aktive Körper nannte.

Im Widerspruch mit dem, was einige Forscher behauptet haben, haben nach Verf. die in der Milch enthaltenen Mikroorganismen nicht den geringsten Anteil an den Reaktionen, die man mit der Storchschen und den anderen Methoden erhält. Diese Reaktionen sind ohne jeden Zweifel der Gegenwart eines besonderen Enzyms (oder aktiven Körpers) zuzuschreiben, das die Milch aus dem Organismus mit sich bringt, dem sie entstammte.

Dieser aktive Körper findet sich in der Milch aller der verschiedenen der Untersuchung unterworfenen Tierarten, jedoch in ganz verschiedener Quantität. So existierte er nicht nur in der Milch der Kuh, sondern auch in der des Pferdes, der Ziege, des Schafes, des Esels, der Hündin, der Frau und somit wahrscheinlich in der Milch aller Säugetiere. Ebenso findet er sich in vielen Pflanzen, denn Verf. hat ihn in vielen Früchten, Samen, Blättern und Knollen angetroffen.

Dieser aktive Körper führte mit denselben Reagentien zu verschiedenartiger Färbung der Milch der verschiedenen Tierarten, ein Vorgang, der der Verschiedenheit der einzelnen Kaseine zuzuschreiben ist.

Dieser aktive Körper leistet dann der Einwirkung der direkten Sonnenstrahlen 12 Stunden lang Widerstand und hält, der bisherigen Annahme entgegen, auch längere Zeit 80° C überschreitende Temperaturen aus; so kann er auch nach 10—18 Minuten langer Erhitzung auf 100° C noch aktiv bleiben, und zwar sowohl im Milchserum der verschiedenen Tierarten wie auch in den Pflanzenaufgüssen.

Der aktive Körper leistet auch den bedeutend konzentrierten Säuren gegenüber lange Widerstand und ist in konzentriertem Alkohol unlöslich, löslich aber in dem weniger als 10 Proz. starken.

Ceradini (Mailand).

Corsini, A., Alcune ricerche sulle ossidasi della farina e del latte. (Arch. di farmacol. sperim. 1907. Fasc. 6.)

Pighini kommt in seiner Studie „Ueber die Blutreaktion gegenüber Guajakol" zu dem Schlusse, daß die Katalase nicht den geringsten Einfluß ausübt, und das hauptsächliche Element das extrahämaglobine Eisen ist.

Der erste Teil dieses Schlusses, wonach die Guajakolreaktion nicht von dem oxydierenden Ferment des Blutes bewirkt würde, veranlaßte Verf., Untersuchungen anzustellen, über die er in erwähnter Arbeit berichtet. Da sich Verf. bereits in einer anderen Arbeit mit Guajakolreaktion abgegeben hat, und zwar zur Verwendung derselben bei der Differentialdiagnose der Mehle, so schloß er auch hier wie bei den Mehlen, und in Uebereinstimmung mit dem, was andere Forscher in Bezug auf das Blut vorgefunden hatten, daß es sich dabei um eine Katalase handle. Da jedoch sowohl bei den Mehlen wie beim Blute ein ähnliches Ferment in Betracht kam, das dieselbe Guajakolreaktion hervorrief, wollte Verf. nachprüfen, ob das Mehl sich wie das von Pighini untersuchte Blut verhält, und wählte dazu Kornmehl, eben weil dieses in wenigen Sekunden eine stark ausgesprochene Reaktion abgibt.

Auf Grund der eigenen Versuche kommt Verf. zu dem Schlusse, daß auch bei den Mehlen die Katalase und die Guajakolreaktion nicht von demselben Erreger ausgehen und untereinander in keinerlei Abhängigkeit stehen. Da es nun bisher genügte, in einer Substanz die Guajakolreaktion oder das katalytische Vermögen zu beobachten, um daraus schließen zu können, daß in ihr ein Ferment vorhanden ist, so müssen damit, nachdem die Unabhängigkeit beider Reaktionen anerkannt worden ist, und nachdem dargetan wurde, daß Guajakolreaktion statfinden kann, wo kein Ferment vorhanden ist (untätiger Staub) und umgekehrt (Albumin), die Anhaltspunkte zur Erkennung gewisser Fermente zu fallen beginnen.

Verf. hat dann auch die Milch untersucht, bei der Guajakolrektion zum Nachweis des nicht stattgefundenen Kochens verwandt wird und man die Ursache einer Oxydase zuschrieb; auch dabei kam er zu demselben Resultate, wie bei den Mehlsorten. Alles dies beweist, daß die Notwendigkeit der Fortsetzung dieser Studien zur Erklärung der Erscheinungen der Katalyse und Guajakolreaktion absolut gegeben ist.

Ceradini (Mailand).

Miehe, Die Selbsterhitzung des Heues. Jena (Gustav Fischer) 1907.

In der ziemlich umfangreichen Abhandlung behandelt Verf. zunächst Umfang und Bedeutung des Problems der Selbsterhitzung. Dann wird Verlauf und Maximum der Temperatursteigerung bei einem größeren Versuch besprochen, wobei die Wärme mit 68,5° ihren Höchststand erreichte, und dies Ergebnis mit zahlreichen Literaturangaben in Vergleich gestellt. Das dann folgende Kapitel über die chemischen Umsetzungen bei der Selbsterhitzung festgepackten Heues unter Ausschluß von Sauerstoff bringt keine eigenen Versuche des Verf., außer einer experimentellen Begründung der Ansicht, daß für die Erhitzung des Heues der Sauerstoff eine notwendige Bedingung ist.

Weiterhin stellt Verf. fest, daß sterilisiertes Heu sich nicht selbst erhitzt, außer wenn durch Impfung die entsprechenden Mikroorganismen zugeführt wurden, und daß weiterhin der Selbsterhitzung unterworfen

gewesenes Heu nach dem Abwaschen, aber auch nur dann, sich wieder von neuem erhitzen kann. Die Erscheinung ist dahin zu erklären, daß die Kleinlebewesen durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten an ihrer Entwickelung gehindert werden, nach deren Beseitigung aber das Heu sofort wieder angreifen können.

Aus den folgenden Absätzen der Arbeit ist zu entnehmen, daß die drei für gärende Heumassen sehr charakteristischen Kleinlebewesen: Bacillus coli, Oidium lactis und Bacillus calfactor imstande sind, festgepackte Heumassen zu erhitzen, und daß durch die Kombinationen Bacillus coli plus Bacillus calfactor und Oidium lactis plus Bacillus calfactor eine normale Erhitzung toten feuchten Heues erzielt werden kann. Es werden dann die für die hier behandelten Fälle wichtigen Bakterien und Pilze beschrieben, so Bacillus coli forma foenicola, Oidium lactis, das teilweise absolut vorherrschte, Bacillus calfactor n. sp. für den untere Wärmegrenze 30°, Optimum 60° und Höchstgrenze etwa 70° ist. Sauerstoffabschluß verhinderte das Wachstum, doch erfolgte bei Verminderung der Sauerstoffmenge bis auf ein Viertel noch üppige Entwickelung. Als für heiße, gärende Pflanzenmassen charakteristischer Pilz wird dann noch Actinomyces thermophilus, ebenso Thermomyces lanuginosus und Thermoascus aurantiacus n. sp. nebst Aspergillus fumigatus genannt, denen sich Mucor pusillus und corymbifer anschließen.

Aus dem sich dann anschließenden Abschnitt geht hervor, daß die Selbsterhitzung des Heues vielfach bis zur Selbststerilisation führt, ein Umstand, den Verf. sogar vom tierhygienischen Standpunkt als bedeutungsvoll ansehen zu müssen glaubt. Eine befriedigende Erklärung für diese Selbststerilisierung steht übrigens noch aus.

Die weiter folgenden Betrachtungen über die thermophilen Mikroorganismen und ihre Existenzbedingungen in der Natur, heiße Pflanzenstoffe als Brutstätten von Krankheitskeimen, weiterhin über die Fermentation des Tabaks in ihren Beziehungen zur Selbsterhitzung des Heues, und endlich über Atmung und Wärme, Selbsterhitzung und Selbstentzündung, wie Selbsterhitzung in früheren Erdperioden, sind mehr theoretisch spekulativer Art, zumal die Kapitel X und XII. Daher genüge hier eine Erwähnung ihres Inhaltes. Ehrenberg (Breslau).

Ritter, G., Ueber Kugelhefe und Riesenzellen bei einigen Mucoraceen. (Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 255—266. Mit 1 Tafel u. 1 Textfigur.)

Bei dem Versuch, Mucor-Hefe durch kombinierte Wirkung von Salz- und Säurelösungen zu erhalten, stellte sich heraus, daß durch gleichzeitige Einwirkung dieser beiden Reagentien unerwartet starke Giftwirkungen zu stande kommen, wie aus folgenden Zahlenangaben hervorgeht: Sporenkeimung wird verhindert in Nährlösung ohne Zitronensäure durch $9^3/_4$ Proz. NaCl, in Nährlösung mit 2 Proz. Zitronensäure durch 2 Proz. NaCl, in Nährlösung mit 4 Proz. Zitronensäure durch $^1/_2$ Proz. NaCl, in Nährlösung ohne NaCl durch $6^1/_2$ Proz. Zitronensäure etc.

Die Riesenzellenbildung wurde besonders an Mucor spinosus beobachtet, und zwar stellte sich heraus, daß ganz enorme und besonders charakteristische Riesenzellen in zuckerhaltigen Lösungen mit anorganischen Ammonsalzen als N-Quelle und geringen Mengen organischer Säuren entstehen. Verf. glaubt aus seinen Versuchen den Schluß ziehen

zu dürfen, daß die günstigsten Bedingungen für die Bildung typischer Riesenzellen dann geschaffen werden, wenn die giftigen H-Ionen sich allmählich ansammeln (wie das eben in den oben genannten Lösungen der Fall ist).

Unter den angegebenen Bedingungen wachsen nicht nur die Sporen zu Riesenzellen aus, sondern auch normal entwickeltes Mycel bildet ähnliche Anschwellungen, wie sich zeigt, wenn normal gewachsene Mycelflöckchen in eine geeignete angesäuerte Nährlösung übertragen werden. Sich selbst überlassen, gehen die Riesenzellen nach einiger Zeit zu Grunde; in säurefreie Lösungen übertragen, wachsen sie dagegen zu normalen Hyphen aus. Auch dadurch kann dieser Vorgang ausgelöst werden, daß bei gleichbleibendem Säuregehalt die Zusammensetzung der Lösung verändert wird (Ersatz des Ammonnitrat durch ein organisches Salz oder Asparagin oder Pepton). Die Ursache dieser Erscheinung ist wohl in der Bildung freier Mineralsäuren aus anorganischen Ammonsalzen zu suchen; und zwar wahrscheinlich in der intracellularen Abspaltung freier Säure. Neger (Tharandt).

Zettnow, E., Ueber Froschlaichbildungen in Saccharose enthaltenden Flüssigkeiten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. 1907. Heft 1. p. 154.)

Außer der Arbeit von Liesenberg und Zopf: „Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und den javanischen Rohrzuckerfabriken“ (1892) ist keine Publikation über diesen Organismus erschienen; alle anderen über Schleim und Gallerte bildende Mikroorganismen beziehen sich auf stäbchenförmige Bakterien, nicht auf Kokken. Die beiden Autoren arbeiteten mit 3 Stämmen des froschlaichbildenden Streptococcus mesenterioides, welche sich später als völlig gleich herausstellen. L. und Z. gaben zur Gewinnung einer Reinkultur aus dem Froschlaich der Zuckerfabriken die Vorschrift, das Rohmaterial 15 Minuten lang bei 75° C zu halten und dann in gewöhnlicher Art Platten zu gießen unter Verwendung von Rohrzuckergelatine, da der Streptococcus mesenterioides in seiner Froschlaichform erst bei 87—88° C, in der hüllenlosen Form noch nicht bei 83,5° C abgetötet werde, während die vegetativen Formen anderer, wegen der schleimigen Hülle ihm hartnäckig anhängenden Bakterien durch eine solche Erhitzung zu Grunde gehen.

Zettnow versuchte vergebens eine Reinkultur des von Liesenberg und Zopf studierten Mikroorganismus zu erlangen, und als er durch Herzberg allmählich innerhalb 10 Jahren 15 „Froschlaichbildungen und Schleimgärungen“ aus Zuckerfabriken erhielt, versagte die von L. und Z. angegebene Vorschrift. Zettnow ermäßigte deshalb die Erhitzung des Rohmaterials auf 70, bezw. 68, 65, 63 und 59° C; erst als das Rohmaterial 15 Minuten nicht höher als auf 59° erhitzt wurde, entwickelten sich Kolonieen des Leuconostoc neben solchen anderer Bakterien. Eine Trennung der den schleimigen Hüllen hartnäckig anhaftenden fremden Bakterien von den Streptokokken war durch Erhitzung nicht zu erreichen; Zettnow schlug deshalb einen anderen Weg ein, der im Original nachzulesen ist. Zwei von den so gewonnenen Stämmen, die Stämme „Opalanitza“ und „Aller“, hat Zettnow genauer studiert und gegenüber dem Leuconostoc von Liesenberg und Zopf außer dem verschiedenen Verhalten gegenüber höherer Temperatur und gegenüber einer 3 Proz. Chlorcalcium enthaltenden Rohrzuckerbouillon, welche

das Wachstum des Liesenberg-Zopfschen Leuconstoc begünstigte, noch folgende Unterschiede gefunden: völlig anderes Wachstum in Traubenzucker enthaltenden Nährböden, in denen sie keine Hüllen bilden, weiterhin das Wachstum auf Kartoffeln, auf denen „Opalanitza“ und „Aller“ selbst nach Alkalisierung der Oberfläche durch kohlensaures Ammon nur äußerst geringes Wachstum zeigten, ferner ziemlich große Empfindlichkeit gegen Austrocknen, ausbleibendes Wachstum in peptonfreien, jedoch Asparagin enthaltenden Nährböden, endlich deutlich sichtbares Wachstum innerhalb 24 Stunden bereits bis 8—9° C. — Das Optimum des Wachstumes war dasselbe, wie es Liesenberg und Zopf angaben: 28—34° C.

Gegenüber diesen physiologischen Verschiedenheiten waren die morphologischen gering.

Zettnow gibt nun eine eingehende Beschreibung der von ihm isolierten Streptokokken Aller und Opalanitza auf folgenden Nährböden: 1) schwach alkalischer Peptonfleischwasserbouillon, welche auf 1 l 0,5 g krist. Soda über den Lackmusneutralpunkt enthält; 2) Saccharose- oder Zuckerbouillon, bei deren Herstellung No. 1 benutzt wurde unter Zugabe von 10 Proz. grobkristallischem Würfelzucker; 3) gewöhnliche Gelatine = No. 1 mit Zugabe von 10 Proz. Gelatine, gleichfalls mit 0,5 g Soda auf 1 l über den Lackmusneutralpunkt alkalisiert; 4) Saccharose- oder Zuckergelatine: Die unter 3) aufgeführte Gelatine nach Zusatz von 10 Proz. Würfelzucker; 5) Dextrose- oder Traubenzuckergelatine: Die unter 3) aufgeführte Gelatine nach Zusátz von 10 Proz. chemisch reinem Traubenzucker. Schill (Dresden).

Löhnis, Bodenbakteriologie und Düngungsfragen, mit besonderer Berücksichtigung der Kleedüngung. (Vortrag, gehalten i. d. ökonom. Gesellsch. im Königr. Sachsen, am 1. Febr. 1907.)

Verf. führt die Gründe an, welche die Aufstellung allgemein gültiger Düngungsrezepte unmöglich machen. Die chemische Bodenanalyse ist nicht im stande, das verschiedenartige Verhalten der Kulturpflanzen zu den aufnehmbaren Nährstoffen des Bodens zu erklären, und sie gibt auch keine Auskunft über den Verlauf und Erfolg der mannigfaltigen Umsetzungen im „tätigen“ Boden. Nur die genauere Erforschung der an diesen Vorgängen beteiligten Kleinlebewesen des Bodens kann hier weitere Einblicke schaffen. Durch exakte Ermittelung der physiologischen Leistungsfähigkeit der in verschiedenen Richtungen wirksamen Bodenbakterien nach dem Vorgange Remys kann eine Erklärung für die Ursachen der wechselnden Fruchtbarkeit der Böden und der differenten Wirkungsweise der verschiedenen Düngemittel gewonnen werden. Schon häufig brachte das nähere Studium der bakteriologischen Eigenschaften eines Bodens eine einfache Erklärung der oft widerspruchsvollen Ergebnisse vergleichender Düngungsversuche. Das gilt besonders für Versuche mit solchen stickstoffhaltigen Düngemitteln, welche wie Ammoniak, Stickstoffkalk und Kalkstickstoff nicht direkt von den höheren Pflanzen aufnehmbar sind, sondern unter dem Einfluß von Bodenorganismen erst Umwandlungen verschiedener Art erfahren müssen.

Bezüglich der Kleedüngung äußerst sich Verf. dahin, daß eine Zufuhr von mineralischen Nährstoffen in den meisten Fällen zweckmäßig und rentabel ist, daß aber eine Stickstoffdüngung für gewöhnlich unterlassen werden könne. Stallmist und Jauche sind daher bei anderen

Feldfrüchten besser am Platze als bei Klee. Die ausgiebige Verwendung von Kalk, Kali und Phosphorsäure fördert die Tätigkeit der Knöllchenbakterien und damit die Stickstoffversorgung des Klees. In allen Fällen, in welchen der Knöllchenbesatz der Wurzeln gering bleibt, ist eine Impfung der Samen mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien zu empfehlen.

Kleemüdigkeit liegt nur dann vor, „wenn der Klee in der ersten Zeit, oft bis zum Frühjahr des Nutzungsjahres, eine befriedigende Entwickelung zeigt, dann aber versagt, trotzdem an Feuchtigkeit und Wärme kein Mangel herrscht". Die Ursache der Kleemüdigkeit ist wahrscheinlich in einer Verarmung des Untergrundes an Kali und Phosphorsäure zu erblicken. Niedere Pilze sind an dem Zustandekommen dieser Erscheinung nicht beteiligt. Vogel (Bromberg).

Vogel, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden. (Illustr. landw. Zeitung. 1907. No. 20.)

Als das Hauptziel der bakteriellen Bodenuntersuchung ist die Ermittelung der physiologischen Leistungsfähigkeit der landwirtschaftlich wichtigen Bodenmikroben zu betrachten. Die Bestimmung der Fäulniskraft, des Salpeterbildungs- und Stickstoffsammlungsvermögens wird daher mit der Zeit und mit dem fortschreitenden Ausbau der Methodik Beziehungen zwischen diesen biologischen Vorgängen und der Fruchtbarkeit der Ackerböden erkennen lassen. Jede mechanische und chemische Veränderung des Bodens, also jede Maßnahme der Bodenbearbeitung und Düngung, ändert den für gewöhnlich bestehenden Gleichgewichtszustand der Bodenflora. Die günstige Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf das Pflanzenwachstum, und die bei zweckmäßiger Bodenbearbeitung eintretende „Gare" des Bodens sind wahrscheinlich Ausdrucksformen solcher Gleichgewichtsstörungen des Bakterienbestandes.

Von größter Bedeutung für eine rationelle Pflege der Bodenorganismen sind die auf eine Erhöhung des Humusgehaltes der Böden gerichteten Bestrebungen, ganz besonders soweit es sich um die Förderung der Lebenstätigkeit der freilebenden Stickstoffsammler handelt. Der stickstoffsammelnde Effekt dieser Mikroben steht in direkter Beziehung zur Menge des dargebotenen Nährmaterials. Die Ackerböden der gewöhnlichen Art bieten in ihrem durchschnittlich nur geringen Humusgehalt diesen wichtigen Bodenmikroben die einzige Energiequelle dar, es ist also begreiflich, daß die Stickstoffsammlung auf freiem Felde über eine gewisse Grenze nicht hinauskommen kann. Die Bestrebungen der Bodenbakteriologie müssen daher auf eine Bereicherung des Bodens mit leicht aufnehmbaren stickstofffreien Nährmaterialien gerichtet sein.

Diejenige Maßnahme, welche unstreitig den Bakterienbestand des Bodens in vorteilhaftester Weise beeinflußt, ist die Schwarzbrache, in deren tieferes Wesen wir jedoch noch keinen ausreichenden Einblick haben. Es ist noch unentschieden, ob die im Anschluß an Brachhaltung hervortretende Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit auf einen Gewinn an Pflanzennährstoffen, besonders an Stickstoff, zurückzuführen ist, oder ob es sich nur um eine verstärkte Aufschließung der bereits im Boden schlummernden Nährstoffformen handelt.

Zum Schluß erwähnt Verf. noch einen auf Freilandparzellen ausgeführten Impfversuch zu Leguminosen unter Anwendung der neuen Hiltnerschen Reinkulturen von Knöllchenbakterien. Die Impfung brachte Mehrerträge gegen ungeimpft:

	an Trockensubstanz	an Stickstoff
bei Seradella	21,1 Proz.	67,8 Proz.
bei gelben Lupinen	53,6 „	129,9 „
bei Sojabohnen	18,0 „	23,3 „

Autoreferat.

Hollrung, Inwieweit ist eine Düngung mit schwefelsaurem Ammoniak geeignet, bei den Zuckerrüben eine Schädigung hervorzurufen. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1906. Heft 5.)

Verf. bespricht im wesentlichen die Bedeutung einer Düngung mit schwefelsaurem Ammoniak zu Zuckerrüben im Vergleich zur Anwendung von Chilisalpeter, und legt besonderes Gewicht darauf, daß bei der erstgenannten Stickstoffverbindung der Zeitpunkt, in welchem der Nitrifikationsprozeß in ausreichendem Umfange einsetzt, von maßgebender Bedeutung ist. Ehrenberg (Breslau).

Schneidewind, Meyer und **Frese,** Die Wirkung frischer Gründüngungspflanzen (Gemisch von Erbsen, Bohnen, Wicken) und Rübenkraut im Vergleich zum Salpeter. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXV. p. 923.)

Bei Gefäßversuchen der Verff. betrug die Ausnutzung des Salpeterstickstoffs im Mittel 82,6 Proz., die Ausnutzung des Gründüngungsstickstoffes 42,8 Proz., und die des Rübenkrautstickstoffs 36,2 Proz. Wird die infolge der Salpeterdüngung mehr aufgenommene Stickstoffmenge = 100 gesetzt, so betrug die Ausnutzung des Gründüngungsstickstoffs im Mittel 52,5, die des Rübenkrautstickstoffs 43,0 Proz. des Salpeterstickstoffs.

Vogel (Bromberg).

von Seelhorst, Versuche über den Verbleib des Gründüngungsstickstoffs auf einem leichten Sandboden. (Mitteilungen d. deutsch. Landwirtschafts-Gesellsch. 1907. Stück 14.)

Die früher besprochenen Versuche wurden im Jahre 1906 fortgeführt. Verf. ließ die Gründüngermasse in der verschiedensten Weise — tief und flach, im Herbst und im Frühjahr — unterbringen und studierte ihre Wirkung auf die Nachfrucht und den Stickstoffverbleib im Boden. Die Drainwasseruntersuchungen ergaben erhebliche Unterschiede, die sich aus der Art und dem Stand der Früchte erklären. Die Wasserabgabe war bei den Kästen mit schwachem Pflanzenbestand größer als bei denjenigen mit üppiger Vegetation und wurde während der Vegetationsperiode selbst durch die Wasseraufnahme und -verdunstung durch die Pflanzen stark beeinflußt.

Von Interesse ist der unter Berücksichtigung der gesamten Stickstoffeinnahmen und -ausgaben aufgestellte Stickstoffhaushalt. Die mit Kartoffeln bepflanzten Kästen hatten sehr viel mehr Stickstoff an das Drainwasser abgegeben als die Getreidekästen, wohl deshalb, weil bei jenen in den Monaten Mai bis Juli eine starke Ausspülung löslichen Stickstoffs erfolgte.

Auf die sonstigen Details der umfangreichen Untersuchungen kann hier nicht näher eingegangen werden. Für die landwirtschaftliche Praxis ergaben sich die folgenden beachtenswerten Schlüsse:

1) Die Zersetzung der Gründüngungsmasse in einem leichten Sandboden erfolgt selbst dann, wenn sie erst im Oktober untergebracht ist, so rasch, daß die Hälfte des Gründüngungsstickstoffs in einem milden und niederschlagsreichen Winter schon im Februar und März zur Auswaschung kommt.

2) Erfolgt die Unterbringung der Gründüngung erst im Frühjahr, so ist natürlich anzunehmen, daß die Zersetzung noch rascher erfolgt. Der gelöste Stickstoff wird aber weniger zur Auswaschung kommen, da die Vegetation einen Teil desselben verbraucht, zudem auch die Wasserentnahme die Menge des zum Abfluß kommenden Wassers und damit des in den Untergrund gespülten Stickstoffs vermindert.

3) Es ist mithin vom Standpunkte des rationellen Stickstoffhaushaltes anzustreben, einen leichten Sandboden möglichst stets unter einer Vegetation zu halten, um die Stickstoffauswaschung hintanzuhalten, und ferner die Gründüngung möglichst zu der Zeit unterzubringen, daß sie zur Zersetzung kommt, wenn eine zu Felde stehende Vegetation ihren Stickstoff verbrauchen kann. Vogel (Bromberg).

Schleh, Steigerung der Ernteerträge durch Imprägnation des Saatgutes mit konzentrierten Lösungen von Nährsalzen. (Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 33.)

Verf. berichtet über das Ergebnis einiger Vegetationsversuche, bei welchen das Saatgut nach dem Vorgange von Issleib mit konzentrierten Lösungen von Nährsalzen imprägniert worden war. Die unter genauer Berücksichtigung der Boden- und klimatischen Verhältnisse mit allen erforderlichen Kautelen durchgeführten Versuche führten zu einem für die Issleibsche Samenimprägnation ungünstigen Ergebnis. Das Einbeizen mit konzentrierten Nährsalzlösungen hatte erhebliche Nachteile im Gefolge. Diese bestanden

1) in den erheblichen Kosten, die dem Landwirte durch die erforderlichen Manipulationen (Herstellung der Lösung, Beizen und Abtrocknen der Samen) erwachsen,

2) in der Beeinträchtigung der Keimfähigkeit des Samens und

3) in der Verzögerung der Keimung des Saatgutes.

Diese Nachteile werden weder durch die Erhöhung des Ertrages bei den Körnern, noch beim Stroh ausgeglichen. Selbst im günstigsten Falle steht die Steigerung der Ernten in keinem Verhältnis zu den erhöhten Kosten des Verfahrens. Vogel (Bromberg).

Stoklasa, Ueber die Wirkung des Stallmistes. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. X. 1907. p. 440.)

Verf. berücksichtigte bei seinen Untersuchungen über den Stallmist in erster Linie die biochemische Seite der Frage. Er setzt auseinander, wie die in der Trockensubstanz des Mistes zu 30—40 Proz. enthaltene Cellulose und die in einer Menge von 20—30 Proz. vorhandenen Pentosane einer Zersetzung durch Bakterientätigkeit unterliegen. Im ersteren Falle sind vornehmlich die durch Omelianskis Untersuchungen bekannt gewordenen, eine Wasserstoff- oder Methangärung bewirkenden Organismen beteiligt, die Pentosane werden durch zahlreiche Mikroben verschiedener Art zunächst hydrolysiert und alsdann weiter gespalten. Besonders für die Ammonisationsbakterien bilden die Pentosen eine vorzügliche Energiequelle, während sie für die Ernährung der denitrifizierenden Bakterien weniger geeignet sind.

Die stickstoffhaltigen Verbindungen der festen Anteile des Stallmistes, vornehmlich hochmolekulare Nukleoproteïde, werden durch verschiedene Bakteriengruppen abgebaut, wobei zunächst Albumosen, Peptone und Amidosäuren und schließlich Ammoniak, Kohlensäure, Methan und Schwefelwasserstoff entstehen. Es sind dies also im wesentlichen die

gleichen Produkte, welche sich bei der ammoniakalischen Gärung des Harnes bilden. Neben diesen abbauenden Prozessen verlaufen gleichzeitig synthetische, indem manche Gruppen von Organismen Ammoniak und Nitratstickstoff wieder assimilieren und in Form ihrer Leibessubstanz festlegen. Dieser Aufbau hängt in hohem Maße von dem Vorhandensein und der Art einer entsprechenden Kohlenstoffquelle ab.

Tiefgehende Aenderungen in seiner chemischen Beschaffenheit erfährt der Stallmist durch den Atmungsprozeß der Bakterien, wobei beträchtliche Mengen von Kohlensäure als Endprodukt auftreten. Durch diese Vorgänge wurden beispielsweise bei Rindviehkot in 100 Tagen Verluste an Trockensubstanz bei vollem Luftzutritt von 43,06 Proz., bei Sauerstoffabschluß von 7,5 Prozeß hervorgerufen. Verf. berechnete, daß bei einer normalen Stallmistdüngung durch das Fortschreiten der Atmungsprozesse ungefähr 1 l Kohlensäure auf 1 kg Boden gebildet wird. Die lösende Wirkung dieser Kohlensäure auf zahlreiche mineralische Bodenbestandteile, welche durch die ebenfalls bei der Mistzersetzung produzierten organischen Säure noch unterstützt wird, ist zweifellos von günstiger Wirkung auf das Pflanzenwachstum.

Der Stallmist wirkt ferner nicht nur durch seinen Gehalt an humusbildenden organischen Bestandteilen, sondern auch als Ueberträger außerordentlich großer Mengen von Bakterien erhöhend auf die Fruchtbarkeit des Bodens. Daß die Entwickelung der Vegetation in weitgehendem Maße von den anwesenden Bodenmikroben abhängig ist, hat Verf. durch zahlreiche Vegetationsversuche festgestellt, bei welchen die in den Kreislauf des Stickstoffs eingreifenden Vorgänge besondere Berücksichtigung fanden. In der Tatsache, daß nach Stallmistdüngung die Menge der im Boden produzierten Kohlensäure gesteigert ist, erblickt Verf. einen direkten Beweis dafür, daß der Bakterienbestand des Düngers an dem Zustandekommen seiner Wirkung beteiligt ist. Es ergab sich, daß durch die Stallmistdüngung die Atmungsenergie der Bakterien ungemein vergrößert wurde, und daß durch diesen Prozeß auch die Temperatur des Bodens stieg. Im Einklang hiermit stand das Resultat der unter Anwendung von frischem und sterilisiertem Kuhkot durchgeführten Vegetationsversuche. Die sterilisierten Exkremente brachten geringere Erträge als die nicht sterilisierten, die Stalldüngerwirkung muß also zum Teil auf seinen Bakteriengehalt zurückgeführt werden.

In ähnlicher Weise durchgeführte Versuche ergaben ferner, „daß bei jenen Böden, welche mit frischen, nicht sterilisierten Exkrementen gedüngt wurden, der Prozeß des Löslichwerdens der in unlöslicher Form vorhandenen Phosphorsäure viel energischer vor sich gegangen ist als bei solchen Böden, welche mit sterilisierten Exkrementen gedüngt wurden“.

Im Stallmist sind nach alledem vier wirksame Faktoren anzunehmen. Er ist der Träger der leicht zersetzbaren organischen Substanzen, der verschiedenen Pflanzennährstoffe, der wichtigsten Gruppen von Bakterien, welche die „Gare“ des Bodens hervorbringen, und er übt endlich durch Steigerung der Hygroskopizität des Bodens einen günstigen Einfluß auf die Wasserkapazität im Ackerboden aus.

Eine Begünstigung der Denitrifikationsvorgänge durch Düngung mit Stallmist ist nicht zu befürchten.

Die beste Konservierung des Düngers wird durch Luftabschluß bei Vorhandensein genügender Feuchtigkeit bewirkt. Bezüglich der Anwendung des Stalldüngers kommt Verf. zu dem Resultat, daß es besser

ist, häufiger mit kleineren Mengen als auf einmal mit sehr viel Stallmist zu düngen, und daß neben dem animalischen Dünger noch entsprechende Mengen künstlicher Düngemittel zur Verwendung gelangen sollten. Vogel (Bromberg).

Süchting, Kulturversuche und kritische Studien über das Wirkungsverhältnis von Chilisalpeter und schwefelsaurem Ammoniak. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. LV. 1907. p. 1.)

Die durch exakte Versuche erwiesene geringere Wirksamkeit des Ammoniakstickstoffs im Vergleich zum Salpeterstickstoff hat bisher noch keine vollkommen befriedigende Erklärung gefunden. Nachdem durch Krüger, sowie Gerlach und Vogel der sichere Beweis erbracht war, daß das Ammoniak den höheren Pflanzen direkt als Stickstoffnahrung dienen kann, hat der Vorgang der Nitrifikation entschieden an seiner Bedeutung eingebüßt, um so mehr als die wahrscheinlichen Ursachen der geringeren Wirksamkeit des Ammoniakstickstoffs durch seinen Uebergang in Nitrat in keiner Weise beeinflußt werden.

Es steht fest, daß bei der Düngung mit Ammoniaksalzen Stickstoffverluste durch Verdunstung eintreten können, diese sind aber, wie neuere Versuche lehren, nur in besonderen Fällen (leichter Boden, Anwesenheit von viel Kalk) von nennenswerter Höhe. Eine Absorption des Ammoniaks durch Zeolithe des Bodens ist durch Pfeiffer erwiesen worden. Dabei erfolgt die Festlegung des Ammoniaks so fest, daß die Pflanzen sich den Stickstoff nicht anzueignen vermögen, und so kann dieser Vorgang unter Umständen zu einer erheblichen Minderwirkung des Ammoniakstickstoffs führen.

Verf. hat bei seinen eigenen Untersuchungen besondere Rücksicht auf die Nebenwirkungen des schwefelsauren Ammoniaks genommen, die sich geltend machen können:

1) durch direkte Schädigung der Pflanzen infolge des Säurecharakters,

2) indirekt durch Beeinflussung der Nährstoffaufnahme der Pflanzen,

3) durch Löslichmachen von Bodenkali und Kalk.

Auch die Wirkung des Chilisalpeters wird durch eine Reihe von Faktoren (Denitrifikation, Versickerung, Nebenwirkung des Natrons) beeinflußt, die Verf. in ihrer wirklichen Bedeutung näher studiert hat. In erster Linie bezweckten die von S. eingehend mitgeteilten Untersuchungen also eine Klarstellung der Wirkung des Salpetersäure- und Ammoniakstickstoffes und ferner des Einflusses einer Kali- resp. Natronbeidüngung auf die Wirkung dieser beiden Stickstoffformen. Die Versuche wurden mit Kartoffeln als Versuchspflanze in Vegetationsgefäßen durchgeführt.

Als Hauptergebnis der Untersuchungen darf wohl die Feststellung angesehen werden, daß das Natron einer der für das Wirkungsverhältnis von Ammoniumsulfat und Chilisalpeter ausschlaggebenden Faktoren ist. Die Kartoffel wird durch das Natron des Salpeters nicht günstig beeinflußt, daher ist bei ihr die Wirkung des Ammoniaks der des Salpeters gleich oder überlegen. Auf die Rüben wirkt andererseits der Natrongehalt des Salpeters äußerst günstig, daher ist bei diesen Kulturpflanzen das Ammoniak dem Salpeter nicht gleichwertig. Es erreicht aber dessen Wirkung wieder, wenn gleichzeitig Natron in entsprechender Menge dargeboten wird. Vogel (Bromberg).

Immendorff und Kempski. Calciumcyanamid (Stickstoffkalk oder Kalkstickstoff) als Düngemittel. 123 p. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1907. geh. 3,50 M.

Die Schrift bringt allen denen, die sich für dieses in verschiedener Hinsicht wichtige Gebiet interessieren, eine recht willkommene Zusammenfassung der meisten bisher erschienenen einschlägigen Arbeiten. Es werden zunächst (von Immendorff) nacheinander behandelt: Die Stickstofffrage und die Nutzbarmachung des *Luftstickstoffs*, die Bemühungen, durch Karbidbildungsgemische und Karbide den freien Stickstoff der Luft in Bindung zu bringen, dann speziell die Gewinnung von Stickstoffkalk und Kalkstickstoff, weiterhin das Verhalten des Stickstoffkalks im Boden, seine Einwirkungen auf Pflanzen und Tiere sowie die Erscheinungen, die er beim Lagern zeigt. Daran schließt sich eine, die Hälfte des Buches umfassende, aus Kempskis Feder stammende Zusammenstellung der bei der Düngung mit Stickstoffkalk gemachten Beobachtungen und erzielten Ergebnisse. Allerdings handelt es sich hier wiederum lediglich um eine der bisher allgemein üblichen Aneinanderreihungen von auf rein empirischem Wege erlangten Resultaten, die der wissenschaftlichen Erkenntnis recht wenig nützen. Die daraus gezogenen Schlüsse sind denn auch in diesem Falle so anfechtbar, daß es der eine Herausgeber des Buches (Immendorff) bereits für zweckmäßig hielt, sich gelegentlich in einer Fußnote (p. 62) von der Meinung des anderen zu separieren. Im Schlußwort stellt Immendorff einige Leitsätze auf, nach denen bei Düngungsversuchen mit Stickstoffkalk zweckmäßig zu verfahren ist. Als Nachschrift ist eine kurze kritische Besprechung der neuerdings von W. Rabius verfaßten, „Kritische Betrachtungen zur voraussichtlichen Lösung der Stickstofffrage" betitelten Broschüre beigefügt. Immendorff sagt meines Erachtens sehr mit Recht: „In manchen Punkten kann ich mich mit den Ausführungen Rabius' einverstanden erklären; aber wenn er den Chilisalpeter arg in den Himmel hebt und den Kalkstickstoff oder Stickstoffkalk nach Möglichkeit herabzudrücken sucht, so entspricht das, wie die vorstehenden Ausführungen zeigen, keineswegs den Tatsachen und verrät auch eine gewisse Tendenz." Gerade auf dem Gebiete der Düngerlehre machen sich gegenwärtig so sehr viel angeblich wissenschaftliche Arbeiten breit, von denen man bei näherem Zusehen nicht im Zweifel bleiben kann, zu wessen Nutzen sie eigentlich verfaßt werden, daß es lebhaft zu begrüßen ist, wenn einmal ein deutliches Wort in dieser Angelegenheit gesagt wird. Wie in mancher anderen Hinsicht, so dürfen wir ja allerdings auch gerade in Bezug auf die für eine rationelle Verwendung des Kalkstickstoffs als Düngemittel wichtigen Gesichtspunkte erhoffen, daß gründliche agrikulturbakteriologische Forschungen in immer wachsendem Umfange Klarheit bringen werden über die Ursachen der häufig vorkommenden und nur allzu oft zu Reklamezwecken benutzten Differenzen jener sogenannten wissenschaftlichen Versuche. Löhnis (Leipzig).

Jaap, Otto, Beiträge zur Pilzflora der Schweiz. (Ann. Mycologici. Vol. V. 1907. p. 246—272.)

Die in dem stattlichen Beitrage aufgeführten Pilze wurden in verschiedenen Teilen der Schweiz gesammelt und geben bereits ein anschauliches Bild von der Pilzflora des Landes, besonders soweit die parasitischen Pilze in Betracht kommen, auf die Verf. sein Hauptaugenmerk gerichtet

hat. Von den genannten Pilzen sind viele neu für die Schweiz, auch werden 16 überhaupt neue Arten resp. Formen aufgestellt.

H. Sydow (Schöneberg).

Griffiths, David, Concerning some West American fungi. (Bull. of the Torrey Botanical Club. Vol. XXXIV. 1907. p. 207—211.)

Verf. beschreibt einige neue parasitische Pilze, nämlich:

Sclerospora Farlowii auf Blättern von Chloris elegans in Arizona,

Ustilago Microchloae in den Blütenständen von Microchloa indica in Mexiko.

Sorosporium ovarium in den Ovarien von Panicum caespitosum in Mexiko.

Urocystis Sophiae auf den Wurzeln von Sophia andrenarum in Arizona.

Aecidium Cannonii auf Blättern von Fouquieria splendens in Arizona.

Pucciniae Eurotia auf Blättern von Eurotia lanata in Nevada, und geht ferner auf die Verbreitung einiger bekannter Arten ein.

H. Sydow (Schöneberg).

Studer-Steinhäuslin, B., Die Pilze als Standortspflanzen. (Mitt. d. naturforsch. Gesellsch. in Bern aus dem Jahre 1906. No. 1609—1628. 1907. p. XVII.)

Kurze Besprechung der beiden Theorien, die aufgestellt wurden, um die oft bis zur Ausschließlichkeit führende Vorliebe gewisser Pilzarten für bestimmte Waldarten zu erklären, nämlich der biologischen und chemischen Theorie. Welche der Theorieen den Vorzug verdient, läßt sich jetzt noch nicht entscheiden. Nach dem Verhalten gegenüber den verschiedenen Beständen teilt Verf. die Pilze (Basidio- und Discomyceten) in 3 Gruppen:

1) Ubiquisten, die in jedem Walde vorkommen,

2) fakultative Separatisten, die eine Waldart bevorzugen, aber zur Not sich auch mit einem anderen Boden behelfen,

3) strenge Separatisten, die nur in einer bestimmten Waldart vorkommen.

Matouschek (Wien).

Miyake, J., Ueber einige Pilzkrankheiten unserer Nutzpflanzen. (The Botanical Magazine, Tokyo. Vol. XXI. 1907. p. 1—6, 38—44.)

Auf Morus alba ist in Japan Phyllactinia suffulta nicht selten. Daneben kommt auf derselben Nährpflanze eine zweite Erysiphee vor, die zur Gattung Uncinula gehört und nach dem Verf. eine neue Art (U. Mori) darstellt.

Ein anderer neuer Pilz (Marssonia Mali P. Henn.) tritt auf Blättern des Apfelbaums schädigend auf. Derselbe konnte mit Erfolg auf lebende Blätter des Apfelbaumes, jedoch nicht auf solche anderer Pirus-Arten übertragen werden.

In der Nähe von Tokio befällt Gloeosporium Theae-sinensis n. sp. vielfach die Blätter des Teestrauches.

H. Sydow (Schöneberg).

Reed, G. M., Infection experiments with the mildew on Cucurbits, Erysiphe Cichoriacearum DC. (Transact. Wisconsin Acad. Sciences, Arts and Letters. Vol. XV. p. 527—547.)

Während bei den meisten anderen Erysipheen eine mehr oder weniger weitgehende Spezialisierung des Parasitismus besteht, trifft dies nicht zu bei der Cucurbitaceen bewohnenden Form der Erysiphe Cichoriacearum DC, wie aus folgenden Versuchen des Verf. hervorheht: Co-

nidien, auf Cucurbita moschata entstanden, infizieren mit Leichtigkeit C. pepo, Cucumis sativus und Lagenaria vulgaris und umgekehrt. Bemerkenswert ist, daß die Dauer der Inkubationszeit nicht in allen Fällen die gleiche ist. So erfolgte die Konidienbildung an Lagenaria vulgaris, welche mit Sporenmaterial von Cucumis sativus (Princess cucumber) infiziert waren, 4 Tage später (d. h. erst 15 Tage nach der Impfung) als an Cucumis sativus und Cucurbita pepo (11 Tage nach der Impfung).

Immerhin aber stellt der Cucurbitaceen bewohnende Meltau eine Gewohnheitsrasse dar, welche verschieden ist von der auf Kompositen schmarotzenden E. Cichoriacearum; denn Solidago- und Aster-Arten, welche vergleichsweise der Infektion ausgesetzt waren, blieben dauernd gesund. Neger (Tharandt).

Dietel, P., Einige neue Uredineen aus Südamerika. (Annales Mycologici. Vol. V. 1907. p. 244—246.)

Verf. beschreibt als neue Uredineenarten:

Uromyces Celtidis auf Blättern von Celtis in Brasilien,

Puccinia Usterii auf Blättern einer Malpighiacee in Brasilien,

Pucc. compressa auf Blättern einer Bignoniacee in Brasilien,

Pucc. transformans auf Blättern von Solanum tomatillo in Chile,

Pucc. Tessariae auf Blättern von Tessaria absinthioides in Chile (Uredoform = Uredo Tessariae Speg.),

Coleosporium brasiliense auf einer Labiate in Brasilien.

H. Sydow (Schöneberg).

Klebahn, Kulturversuche mit Rostpilzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1907. Heft 3.)

I. Fortsetzung der Versuche, Puccinia Smilacearum-Digraphidis zu spezialisieren:

a) bezüglich der Spezialisierung auf Polygonatum keine wesentliche Aenderung des Verhaltens des Pilzes gegen früher,

b) bezüglich der Spezialisierung auf Convallaria hatte die einmalige Aenderung der Nährpflanze noch keinen merkbaren Einfluß auf den Pilz ausgeübt.

II. Puccinia Poarum Nielsen.

Nielsens Angaben konnten bestätigt und in Poa alpina und palustris noch zwei weitere Nährpflanzen nachgewiesen werden. Andeutungen hinsichtlich einer Spezialisierung ergeben sich bisher nicht.

III. Puccinia longissima Schröter.

Bubáks Angaben wurden bestätigt.

IV. Puccinia Caricis (Schum.) Rebent.

Mit von Carex acutiformis stammendem Material gelang Infektion von Carex acutiformis, sowie C. acutiformis f. Kochiana, und spärlich auf C. Pseudocyperus. Material, das von Carex vesicaria ausging, erzielte bei einem wiederholten Versuch späte und spärliche Infektion auf Carex vesicaria.

V. Puccinia albiperidia Arthur.

Infektionsversuche mit Material von Carex tetanica hatten nur auf Ribes Grossularia und Ribes aureum schwache und langsame Entwickelung des Schmarotzers zur Folge.

VI. Uromyces Alchimillae (Pers.) Lév.

Erfolgreiche Aussaat von Uredosporen gelang.

VII. Uromyces Dactylidis Otth.

Infektion von Ranunculus languinosus, bulbosus und repens gelang, ebenso Rückinfektion von Dactylis glomerata mit den Aecidiosporen.

VIII. Uromyces Ranunculi-Festucae Jaap.

Teleutosporen veranlaßten Aecidienbildung auf Ranunculus bulbosus. Die Uebertragung der Aecidiosporen rief auf Festuca ovina deutliche Uredoinfektion hervor.

IX. Uromyces Scirpi (Cast.) Lagerh.

Teleutosporenmaterial infizierte Pastinaca sativa, Oenanthe aquatica und Berula angustifolia. Auf Hippuris vulgaris wurde verhältnismäßig reichliche Spermogonienbildung erhalten, doch kamen keine Aecidien zur Reife. Spuren eines Infektionsvermögens zeigten sich auch gegen Sium latifolium.

Alles in allem führen die Versuche zu der Ansicht, daß Uromyces Scirpi ein pleophager Pilz ist, der in eine Anzahl teils schärfer, teils weniger scharf getrennter Formen zerfällt, die an verschiedenen Standorten verbreitet, und zum Teil pleophag, zum Teil wohl auch monophag sind.

X. Gymnosporangium tremelloides R. Hartig.

Teleutosporen erzeugten auf Sorbus Aria Crantz und auf Sorbus torminalis Crantz Infektion.

XI. Phragmidium Rubi (Pers.) Wint.

Teleutosporen von Rubus nemorosus riefen Infektion hervor auf Rubus caesius, R. centiformis, R. nemorosus, R. oreogiton, R. serrulatus; auf R. Arrhenii, R. sciaphilus, R. holsaticus war der Erfolg schwächer. Es ist danach bemerkenswert daß, obgleich die meisten Rubus-Arten einander außerordentlich ähnlich sind, doch der Pilz dieselben nicht alle befällt, sondern eine ganz bestimmte Auswahl trifft, die sich sehr eng an die systematische Verwandtschaft anzuschließen scheint.

XII. Phragmidium Rubi Idaei (Pers.) Karst.

Erfolgreiche Infektion durch Teleutosporen auf Rubus Idaeus L.; durch Infektion gesunder Blätter vermittels der entstehenden Caeoma-Sporen entstanden Uredolager.

XIII. Triphragmium Ulmariae (Schum.) Lk.

Die primäre Uredo entsteht durch Infektion mittelst der Sporidien der Teleutosporen, wie experimentell gezeigt wird.

XIV. Ochropsora Sorbi (Oud.) Dietel.

Die Infektion der Anemone nemorosa mittelst der Ochropsora von Sorbus aucuparia findet im Herbst an den Triebspitzen der Rhizome statt und kann bereits im folgenden Frühjahr zu einem Ergebnis führen. Nährpflanzen des Uredo- und Teleutosporenpilzes sind weiter Sorbus torminalis, S. Aria, S. scandia und Pirus Malus. Spezialisierung ist hier nicht nachweisbar, dagegen dürfte der von einigen Autoren auf Aruncus silvester angegebene Pilz einer anderen, mindestens biologischen Art angehören.

XV. Coleosporium Campanulae rapunculoides Kleb.

Aecidiosporen von Kiefer infizierten Campanula bononiensis, C. glomerata, C. glomerata f. dahurica hort., C. lamiifolia, C. latifolia, C. nobilis, C. rapunculoides, Phyteuma spicatum.

XVI. Cronartium asclepiadeum (Willd.) Fr.

Auch der Pilz auf Grammatocarpus volubilis Presl. gehört zu Cr. asclepiadeum.

XVII. Peridermium Pini (Willd.) Kleb.

Ein Zusammenhang von Peridermium Pini mit einem Cronartium auf Ribes-Arten konnte im Gegensatz zu Mitteilungen der Biol. Abt. des Kaiserl. Gesundheitsamtes nicht nachgewiesen werden.

XVIII. Pucciniastrum Agrimoniae (DC.) Tranzschel.

Auch die den Winter überdauernden Uredosporen erhalten den Pilz.

XIX. Pucciniastrum Circaeae (Schum.) Spegaz.

Infektionsversuche mit Teleutosporen blieben erfolglos.

XX. Pucciniastrum Padi (Kunze u. Schm.) Dietel.

Die normale Entwickelung des Aecidiums an Fichtenzapfen wurde auf einem Zapfen experimentell erreicht.

XXI. Melampsoridium Carpini (Nees) Dietel.

Ein Teil der Uredosporen überwintert auf den abgefallenen Blättern, ohne die Keimfähigkeit einzubüßen.

XXII. Melampsora Helioscopiae (Pers.) Cast.

Aus den Teleutosporen bildeten sich auf Keimpflanzen von Euphorbia Helioscopia Spermogonien und später spärliche Caeoma-Lager.

XXIII. Melampsora pinitorqua Rostr. und Melampsora Larici-Tremulae Kleb.

XXIV. Melampsora Larici epitea Kleb. (?) auf Kätzchen von Salix aurita.

XXV. Melampsora Larici-Capraearum Kleb. auf Salix Capraea und Salix Smithiana.

Die Versuche sprechen nur für eine gewisse Beeinflussung des Infektionsvermögens durch die Nährpflanze, nicht für Vorhandensein ausgeprägter Rassen.

XXVI. Melampsora alpina Juel.

Die auf einer Saxifraga aus Spitzbergen auftretenden Caeoma-Sporen infiziert Salix herbacea. Ehrenberg (Breslau).

Wilson, G. W., Melanospora parasitica. (Torreya. Vol. VII. 1907. p. 57—59.)

Zu diesem Pilze gehört Ceratostoma biparasiticum Ell. et Ev. 1897. Verf. fand ihn auf Isaria farinosa.

Matouschek (Wien).

Stevens, F. L. and **Hall, J. G.,** An apple rot due to Volutella. (Journal of Mycology. Vol. XIII. 1907. p. 94—99. With fig.)

Die Verff. beschreiben eine neue in verschiedenen Gegenden der Vereinigten Staaten auftretende Schwarzfäule auf Aepfeln, als deren Verursacher Volutella fructi n. sp. bezeichnet wird. In der Kultur auf künstlichen Nährmedien brachte das Mycel keine Sporen hervor; hingegen trat reichliche Sporenbildung in einer Kultur auf sterilisierten Zweigen des Apfelbaumes auf. Die Versuche, unbeschädigte Zweige mit dem Pilze zu infizieren, mißlangen. Offenbar bedarf der Pilz einer Wundstelle zu seinem Wachstum. H. Sydow (Schöneberg).

Ewert, Ein Beitrag zur Entwickelungsgeschichte sowie zur Ermittelung der Infektionsbedingungen und der

besten Bekämpfungsart von Gloeosporium Ribis (Lib.) Mont. et Desm. (Pseudopeziza Ribis Klebahn). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1907. Heft 3.)

Verf. stellt aus seinen Versuchen in erster Linie fest, daß Kupferverbindungen, besonders in der Form der Bordeauxbrühe, ein ausgezeichnetes Bekämpfungsmittel gegen die durch das Gloeosporium Ribis hervorgerufenen Blattfallkrankheit sind. Die Gloeosporium-Krankheit ist eine Krankheit des Alters; Sträucher und Blätter selbst von empfindlichen Sorten müssen ein gewisses Alter erreicht haben, ehe sie vom Pilz befallen werden können. Die Hauptinfektionszeit liegt im Mai, Bekämpfungsversuche mit Kupfermitteln sind daher hauptsächlich in diesem Monate vorzunehmen.

Ferner ist zu beachten, daß gelungene künstliche Infektionsversuche nicht beweisen, daß einer Johannisbeersorte natürliche Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz fehlt.

Die im Sommer gebildeten Konidien behalten auch den Winter hindurch ihre Keimfähigkeit, und es ist wahrscheinlich, daß sie auch infektionskräftig bleiben. Dagegen dürfte das Mycel nicht im Holze überwintern.

Eine begünstigende physiologische Wirkung der Bordeauxbrühe an sich kommt bei der Johannisbeere ebensowenig in Betracht, wie bei der Kartoffel, Buschbohne, Radieschen und Weinstock.

Die „rote holländische Johannisbeere“ ist fast ganz unempfänglich gegen die Krankheit. Ehrenberg (Breslau).

Spieckermann, Ueber den Parasitismus der Valseen. (Sitzungsber. d. naturhistor. Ver. d. preuß. Rheinlande u. Westfalens. 1906. 2. Hälfte. C. p. 19–27. Bonn 1907.)

Nach Charakterisierung der Valseen, die zu den Schwächeparasiten gehören, kommt Verf. auf das „rheinische Kirschbaumsterben“ zu sprechen und entwirft ein Bild der bekannten Krankheit. Uns interessieren folgende Daten und Ansichten des Verf.: 1) Er hat in den Kreisen Recklinghausen, Bochum, Hagen, Bielefeld (Westfalen) und selbst bei Münster die Krankheit beobachtet. 2) In Westfalen ging eine Pflanzung von 500 Bäumen in 2 Jahren völlig ein. 3) Verf. beobachtete in Westfalen epidemisches Sterben der Kirschbäume in Bauernhöfen, die ihrer ganzen Lage nach recht feucht sind; er schließt sich daher nicht den Anschauungen Lüstners an, der den Wassermangel als die Hauptursache der Epidemie ansieht, sondern steht auf der Seite Aderholds, daß nämlich die Verletzungen der Bäume durch die klimatischen Einflüsse Eingangspforten für die Valsa leucostoma sind und daß ohne das Hinzutreten des Pilzes die Bäume wohl die Schädigungen des Klimas überstanden hätten. 4) Ende August 1906 erfuhr Verf. von einem auffallend jähen Absterben der Birnbäume in fast allen Gärten der Stadt Soest. Das Bild der sich vorläufig als Endemie äußernden Krankheit ist folgendes: An Birnbäumen im Alter von 15 Jahren aufwärts vertrocknen viele Aeste, die erst normal ausgetrieben hatten, an vielen Bäumen war der Gipfel schon dürr; manche Aeste waren zwar noch grün, aber deren Blätter waren schwach ausgebildet und gelblichgrün. Wasserreiser bilden sich in Menge am Grunde der erkrankten Aeste. Unmittelbar über dem noch lebenden Teile waren die abgestorbenen Aeste mit zahllosen Höckern besetzt, die sich bei genauer Untersuchung als die Stromata einer Valsa entpuppten, der Valsa cincta, die als Erreger von Krankheiten bisher nicht bekannt ist, obwohl sie auf verschiedenen Prunus-Arten und

auf Pirus Malus bemerkt wurde. Auf künstlichen Nährboden bildet dieser Pilz Pykniden. Weitere Untersuchungen des Pilzes werden später mitgeteilt werden. Infektionsversuche mit Pyknidensporen wurden im Freilande unternommen und zeigen vorläufig nur, daß auch die Valsa-Species ein Schwächeparasit (im Sinne Sorauers) ist. Die Gärten der genannten Stadt liegen sehr tief und sehr feucht; in höher gelegenen Gärten der Vorstadt wurde die Krankheit nicht beobachtet. Ob die Bodennässe oder noch andere Faktoren ausschlaggebend sind, läßt sich jetzt noch nicht sagen. 5) Auch ein Absterben der Pflaumenbäume konnte Verf. in 2 Kreisen der Provinz feststellen. Er fand die Stromata einer Cytospora-Art, die mit Cyt. leucostoma identisch ist. Nähere Untersuchungen über den Pilz und die Infektionsversuche in diesen Fällen werden später behandelt werden. 6) Dieses erwähnte Absterben der Birn- und Pflaumenbäume bei Gegenwart einer Valsa-Art bringt den Verf. zu der Ansicht, daß den Valseen überhaupt ein schwach parasitärer Charakter zukommt. Matouschek (Wien).

v. Höhnel, Franz und **Litschauer, V.,** Beiträge zur Kenntnis der Corticieen. (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. II. Klasse. Vol. CXV. Abt. I. 1906. p. 1549—1620. Mit 10 Figuren.)

Eine ausgezeichnete Arbeit, die sich mit einer der schwierigsten Pilzgruppen befaßt. Neben vielen neuen Arten, die sehr genau beschrieben wurden, wurden alle Exsikkatenwerke durchgegangen und die Resultate mitgeteilt. Hierbei wurde gefunden, daß viele Nummern schlecht bestimmt waren. Sehr viele der Karstenschen Arten wurden teils eingezogen, teils aber umgestellt. Auf die Einzelheiten hier einzugehen, würde zu weit führen; es kann da nur auf die Wichtigkeit der vorliegenden Arbeit hingewiesen werden. Matouschek (Wien).

Stift, Ueber das Auftreten der gemeinen Seide auf Zuckerrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1907. p. 2.)

Aus früheren Untersuchungen konnte Verf. den Schluß ziehen, daß die gemeine Seide (Cuscuta europaea L.) unter Umständen einen recht beträchtlichen Schaden an Zuckerrüben anrichten kann. Das Feld, auf welchem diese Beobachtungen im Jahre 1901 gemacht wurden, trug 1905 wieder Rüben, die auch in diesem Jahre von der Seide ergriffen wurden. Die stark befallenen Pflanzen wurden im Juni ausgerissen und beseitigt. In der zweiten Hälfte des September trat aber trotzdem die Seide wieder an den Rüben dieses Schlages und mehrerer benachbarter Felder auf. Die von dem Parasiten befallenen Rüben erwiesen sich im Gewicht und Zuckergehalt stark geschädigt.

Zur radikalen Bekämpfung der Seide empfiehlt es sich, nicht nur die befallenen Blätter zu entfernen, sondern die ganzen Rüben zu beseitigen. Vogel (Bromberg).

v. Tubeuf, Die Varietäten oder Rassen der Mistel; Infektionsversuche mit Loranthus europaeus; Beitrag zur Biologie der Mistelkeimlinge; das Parasitieren der Loranthaceen auf der eigenen Art oder anderen Loranthaceen; Reproduktion der Mistel; Kultur von Loranthaceen im botanischen Garten. (Naturwissensch. Zeitschr. für Land- und Forstwirtschaft. 1907. Heft 7.)

Verf. behandelt zunächst die Frage der Mistelformen oder Varietäten

und stellt hier, im Anschluß an bereits früher von ihm veröffentlichte Mitteilungen, drei biologische Rassen auf, nämlich

1) die Laubholzmistel, die auf einer großen Anzahl der verbreitetsten Laubhölzer vorkommt und oft von dem einen auf das andere übergeht;

2) die Tannenmistel, auf Abies pectinata und cephalonica, geht nicht auf Föhren und Laubhölzer über;

3) die Föhrenmistel, auf Pinus silvestris und Laricio; sehr selten auf der Fichte, Picea excelsa, geht nicht auf Laubholz über, ebensowenig auf Tanne.

Die bisher vom Verf. ausgeführten Infektionsversuche erzielten zwar vielfach noch keine endgültigen Ergebnisse, da das Eindringen der Keimlinge in die Rinde allein zur Entscheidung der Frage nicht genügt, vielmehr die Entwickelung zu belaubten Pflanzen abgewartet werden muß. Doch sind dieselben bereits derart verlaufen, daß sie nicht gegen die vorbehandelte Ansicht des Verf. gedeutet werden können.

Versuche über künstliche Infektion mit Loranthus ergaben, daß diese Pflanze unter den Arten der Gattung Quercus nicht besonders wählerisch ist, und wohl sehr viele derselben befallen kann. Auch auf Castanea vesca konnte eine Infektion künstlich erzielt werden.

Ueber die Keimung der Mistel finden sich dann eingehende Angaben, besonders wird das Eindringen der Wurzel, das bei durch Blattkissen geschützten Zweigen ein mechanisches ist, an der Hand zahlreicher Abbildungen geschildert. Dann wird das Parasitieren von Loranthaceen auf der eigenen oder verwandten Arten an der Hand der Literatur wie eigener Beobachtungen besprochen. Endlich weist Verf. noch darauf hin, daß bei Zugrundegehen des hypokotylen Gliedes bei der Mistel das unmittelbar unter der Haftscheibe gelegene Gewebe Adventivsprosse, wie übrigens auch Seitenwurzeln zu bilden in der Lage ist. Erwähnt sei zum Schluß, daß Verf. zur Zeit die drei europäischen Loranthaceen in Kultur zu halten vermag, davon nur Arceuthobium Oxycedri natürlicher Infektion entstammend.

Ehrenberg (Breslau).

Gerber, C., Action de Eriophyes passerinae N. sur les feuilles de Giardia hirsuta G. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. Paris. T. CXLIII. 1906. p. 844—845.)

Bei Exemplaren, die in der Umgebung von Marseille gefunden worden sind, bildet Passerina hirsuta am Blattgrunde gelbliche Körper, die sehr klein, gebuckelt sind und aus einer Verbildung der Knospen entstehen. Die Ursache zu diesen Cecidien gibt derselbe Eriophyes passerinae ab, der bereits vom Verf. in den Blütenmißbildungen beschrieben worden ist. Die Wirkung des Parasiten ist ganz besonders interessant, denn er nimmt einer am Meeresufer wachsenden Pflanze ihren deutlich halophilen Charakter, um ihr im Gegensatz dazu die Eigenschaften einer im Binnenlande wachsenden Pflanze zu verleihen. Interessant ist auch die auffallende Aehnlichkeit der von Parasiten heimgesuchten Blätter der Passerina hirsuta mit denen anderer Mitglieder derselben Art, insbesondere der Passerina Sanamunda; so läßt er verwandtschaftliche Beziehungen zutage treten, die die Giardia hirsuta bei ihrer Anpassung an das Leben im Mittelmeerküstengebiet bei normalem Wachstum erheblich verwischt.

Houard (Paris).

Goury, G. et **Guignon, J.**, Deux nouvelles cécidies de Perrisia sur Geranium sanguineum L. (Feuille des jeunes naturalistes. Paris. Série IV. Année XXXVII. 1906. p. 21.)

In diesem kurzen, nur wenige Zeilen langen Artikel beschreiben die Verff. zwei Dipterocecidien; die eine besteht aus einer Anschwellung der Blüte, mit zahlreichen weißen Larven im Innern, die andere aus einer Hypertrophie der Ovarien mit einer Biegung des Schnabels.

Houard (Paris).

Houard, C., Sur les modifications histologiques apportées aux fleurs des Teucrium Chamaedrys et du Teucrium montanum par des larves de Copium. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. Paris. T. CXLIII. 1906. p. 927—929.)

In dieser Mitteilung hat Verf. den in der Marcellia. Bd. V. 1906. p. 83 mit Einzelheiten veröffentlichten anatomischen Teil zusammengefaßt; er kommt dabei zu folgenden Schlüssen: Alles in allem ergeben sich aus dem Parasitismus von Copium-Larven auf Blüten des Teucrium Chamaedrys und Teucrium montanum einige interessante Tatsachen: A. Einesteils beeinflußt die cecidogene Wirkung in gleicher Weise die schützenden Blütenteile und hat das Auftreten einer vegetativen Reaktion zur Folge, die sich durch Verdickung der Wand des Blütenhalses und durch Bildung von für die Cecidiozoen notwendigem Nährgewebe äußert. B. Andererseits wirkt diese cecidiogene Kraft auch sehr intensiv auf die Fortpflanzungsteile ein, indem sie bei diesen zu einer parasitären Kastration führt, jedoch bei jeder Germandreenart in besonderer Weise modifiziert. C. Endlich ist es interessant, die ganz besonders starke Reaktion der Blüte von Teucrium montanum der cecidogenen Wirkung gegenüber zu studieren, eine Reaktion, die sich durch das Befallensein aller Blütenteile, durch die fast kugelförmige Gestalt des hypertrophierten Blütenhalses, durch die so beträchtliche Dicke der Gallenwand und durch die vollständige Atrophie der Fortpflanzungsorgane kennzeichnet. Diese wohlausgebildeten Merkmale stehen vielleicht mit einer vorzeitigen Entwickelung der Blüte in Zusammenhang, die so während eines besonders langen Zeitraumes und in einer Entwickelungsperiode, wo noch alle ihre Teile zu einer weitgehenden Modifizierung fähig sind, unter dem Einflusse des Parasiten steht.

Houard (Paris).

Pierre, Abbé, Biologie de Tettigonia viridis L. et de Anagrus atomos L. Remarques cécidologiques. (Revue scientifique du Bourbonnais et du Centre de la France, Moulins. 1906. Extrait 11 pages. 22 figures.)

In einem sehr interessanten Aufsatz gibt Verf. einen Ueberblick über seine Untersuchungen, die sich auf die Eierablage der Tettigonia viridis auf den jungen Trieben von Alnus glutinosa, Rubus, Rosa, Prunus spinosa, Cornus mas, Ulmus campestris, Salix Caprea, Quercus pedunculata beziehen. Das Ei, das in eine halbmondförmige Schnittwunde versenkt wird, ruft bisweilen eine ziemlich starke Reaktion bei den Geweben der Epidermis und der Rinde am Stiel hervor und führt zur Bildung eines wirklichen Wulstes; so liegen die Verhältnisse wenigstens bei Almus. Die Zweige bei Rosa und Ulmus weisen eine gewisse Verzögerung in der Bildung des Wundkorkes auf. Die Zweige der anderen Arten endlich scheinen gar nicht

zu reagieren und die entstandene Wunde zeigt keines der für Cecidien charakteristischen Merkmale. Houard (Paris).

Korff, Fadenwürmer im Weinstock und am Birnbaum. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 6.)

Verf. erwähnt das Vorkommen von Fadenwürmern an Obstpflanzen; es handelte sich um Mermis albicans, doch lag nicht etwa Parasitismus der Würmer an den Obstsorten vor, sondern es ist anzunehmen, daß die Würmer aus ihren Wirtstieren, Pflanzenschädlingen aus der Klasse der Insekten, ausgewandert waren und nun an deren Wohnort vorgefunden wurden. Ehrenberg (Breslau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Nawiasky, P. und **Korschun, S.**, Ueber die Bestimmung der Härte des Wassers. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. p. 348.)

Für die Bestimmung der transitorischen Härte, der Gesamthärte und der Magnesia haben die Verff. an selbstbereiteten Lösungen Versuche mit den Methoden von Pfeiffer und Monhaupt angestellt. Sie haben sehr genaue Resultate erzielt. Hirschbruch (Metz).

Sireci, G., Sulla ricerca dei germi anaerobi nelle acque. (Giorn. med. d. R. Esercito. 1907. No. 4.)

Verf. hat zahlreiche Untersuchungen angestellt zur Nachprüfung der Guillemardschen Methode für das Aufsuchen und Zählen der Anaërobier im Trinkwasser, das nach Ansicht des Verf. von großer Bedeutung für die Bestimmung der Verunreinigung eines Wassers ist.

Im ganzen hält Verf. die Methode Guillemards für sehr leicht, rasch und wirklich nützlich, wo der hygienische Zustand eines Wassers beurteilt werden soll, glaubt aber andererseits auch, daß es in vielen Fällen nötig wäre, Angaben über die Anaërobier zu besitzen und die absoluten Anaërobier von den fakultativen unterscheiden zu können. Weiterhin wäre es nötig, daß festgestellt würde, innerhalb welcher Quantitätsgrenzen die Anaërobier im Trinkwasser geduldet werden können. Ceradini (Mailand).

Seligmann, E., Ueber die Prüfung gereinigter Abwässer auf ihre Zersetzungfähigkeit. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LVI. 1907. Heft 3. p. 371.)

Spitta und Weldert sehen es als sicher an, daß der Grad des Reduktionsvermögens im biologischem Abwasser einen Hinweis auf die Fäulnisfähigkeit dieses Wassers gebe. „Wird der Abfluß eines biologischen Körpers mit ... Indonaphtholblau oder Methylenblau gefärbt, bei 37 ° unter Luftabschluß aufbewahrt und hat die so aufbewahrte Probe noch nach länger als 3—4 Stunden ihre Farbe behalten, so kann man im allgemeinen annehmen, daß ein Nachfaulen des Wassers unter Schwefelwasserstoffbildung auch bei tagelanger Aufbewahrung nicht eintreten wird.“ Seligmann versuchte besser vergleichbare, quantitative Resultate zu erhalten, in denen er an Stelle der Reaktionsgeschwindigkeit die geringste Menge des Abwassers, welche gerade noch eine bestimmte Menge Methylenblau reduziert, als Maß nimmt. Als Methylenblaulösung diente eine 120-fach verdünnte Stammlösung, als Maß des Reduktionsvermögens

des Abwassers die geringste Menge des letzteren, welche nach 24 Stunden das Methylenblau noch entfärbt.

Es zeigt sich, daß zur Beurteilung des Reinigungseffektes einer Kläranlage eine einmalige Untersuchung des Reduktionsvermögens nicht genügt. Konstruiert man dagegen auf Grund häufiger, in kurzen Zwischenräumen wiederholten Untersuchungen derselben Probe eine Kurve des Reduktionsvermögens, so erhält man ein klares Bild über den Verlauf der Zersetzung im Abwasser.

Das Reduktionsvermögen eines Abwassers kann kein Maßstab sein für seine „noch nicht abgebaute organische Substanz" (wie Spitta und Weldert meinten), vielmehr weist alles darauf hin, daß die Reduktionskraft einen Maßstab abgibt für die im Augenblick der Untersuchung vorhandene bakterielle Zersetzungsgröße organischer Substanzen. Biologisch gut gereinigtes Abwasser reduziert Methylenblau nicht. Setzt man einem Abwasser größere Mengen Nitrat oder Nitrit zu, so wird der frühere zahlenmäßige Ausdruck des Reduktionsvermögens bei der hiernach angestellten Probe nicht verändert. Stellt man eine Reduktionskurve auf, so zeigen Wässer mit abfallender Kurve des Reduktionsvermögens ebenfalls keine Veränderung; Wässer mit ansteigender Kurve der unbehandelten Kontrolle büßen dagegen ziemlich schnell ihr Reduktionsvermögen ein; gleichzeitig sistieren aber auch die sichtbaren biologischen Zersetzungen in den Stehproben; der Zusatz von Nitrat und Nitrit wirkt also präservierend. Schill (Dresden).

Strasburger, E., Ueber den Nachweis von Mutterkorn in den Faeces. (Sitzungsber. d. naturhistor. Ver. d. preuß. Rheinlande u. Westfalens. 1906. 2. Hälfte. B. p. 54—55. Bonn 1907.)

Stücke von Secale cornutum wurden schon oft im Erbrochenen oder im Leicheninhalte des Menschen gefunden. Versuche des Verf. mit durch Wasserextraktion entgifteten frischen oder mit lange abgelagerten Secale ergaben, daß es sich nach entsprechender Behandlung der Faeces schon nach einmaligen Grammdosen sicher nachweisen läßt. Charakteristisch ist die rotbraune Färbung der Rinde nach Säurezusatz und das mikroskopische Bild des engmaschigen Gewebes mit eingeschlossenen Fetttropfen. Um kriminellen Abortus nachzuweisen, ist es natürlich nötig, den Patienten noch bevor das Secale den Darm verlassen hat, zu Gesicht zu bekommen. Dies wird besonders dann der Fall sein, wenn das Mutterkorn noch andere Vergiftungssymptome hervorgerufen hat. Matouschek (Wien).

Scharf, Ergebnisse mit dem Keimkraftapparat. (Deutsche landw. Presse. 1907. No. 41.)

Verf. hat früher (Referat siehe diese Zeitschr. Bd. XVIII. p. 529) die Gesichtspunkte dargelegt, welche für die Konstruktion seines Keimkraftapparates maßgebend waren. Das Instrument erlaubt nicht nur die Anzahl der Keimlinge zu ermitteln, welche 100 Stück Rübensamenknäule nach einer 14 tägigen Einkeimung ausgetrieben haben, also den bisher mit Keimfähigkeit bezeichneten Faktor, sondern er ermöglicht auch die exakte Bestimmung der tatsächlich von den Samen zur Hebung und Durchbrechung der Ackerkruste aufgewendeten Energie. Die große Bedeutung gerade dieser wirklichen Keimkraft für die Beurteilung des Wertes der Rübensamen ist von Verf. in der oben erwähnten Arbeit begründet worden.

Sch. teilt das Ergebnis einer Anzahl von Keimprüfungen mit, die er mit dem von der Firma Fueß-Steglitz angefertigten Keimkraftapparat ausgeführt hat. Es ergab sich, daß bei Samen von gleicher Keimfähigkeit doch die Keimungsenergie, also die Hebkraft in den einzelnen Zeitabschnitten, recht verschieden sein kann. Bei Futterrübensamen aus den Jahren 1905 und 1906 konnte die interessante Tatsache festgestellt werden, daß die alten Samen den jüngeren an Keimkraft überlegen waren. Unter den geprüften Samenproben waren mehrere, bei welchen die nur zahlenmäßig bestimmte Keimfähigkeit nicht in direktem Verhältnis zu der wirklichen Keimungsenergie stand, wo also Samen mit weniger Keimlingen an Hebkraft solche mit mehr Keimlingen übertrafen. Dem Landwirt kommt es aber bei der Aussaat darauf an, möglichst rasch und energisch keimende Samen zu verwenden. „Durch den neuen Keimkraftapparat werden also jetzt die verborgenen Schwächen eines für völlig anstandslos gehaltenen Samens aufgedeckt, und wiederum wieder die verborgenen Vorzüge eines sonst für geringwertig oder wohl gar wertlos gehaltenen Samens zu voller Geltung gebracht."

Vogel (Bromberg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Galvagno, O., Sull'esame del latte pasteurizzato. (Giorn. d. R. accad. di Med. 1907. No. 6. 7.)

Unter den zahlreichen von den verschiedenen Autoren zur Aufbewahrung der Milch vorgeschlagenen Methoden hat den meisten Anklang die Pasteurisierung derselben gefunden. Trotz ihrer Fehler hat sie in Beziehung zur künstlichen Stillung doch sachverständige Gönner gefunden, und vermöchte sie erst in den Familien ohne Umstände angewandt zu werden, so könnte dieses Verfahren zur künstlichen Ernährung ungemein viel beitragen. Auch vom Standpunkte der Anlieferung in großen Städten auf große Entfernungen bietet das vorerwähnte Verfahren bedeutende Vorteile, die es wünschenswert erscheinen lassen, daß es in die tägliche Praxis eingeführt werden könne.

Zum Schutze der Konsumenten gegen die Fälschungen der Verkäufer sind unzählige Verfahren zur Kontrolle der pasteurisierten Milch in Vorschlag gebracht worden: Die Probe mit Magnesiumsulfat, mit Stärke, KI und H_2O_2, die Arnoldsche Reaktion mit Guajakol, die Schardingersche mit Methylenblau, die Storchsche mit Paraphenylendiamin sowie zwei neuere von Buttenberg mit der Keimzählung und der Fermentation.

Verf. hat alle diese Verfahren nachversucht, um festzustellen, welche in erste Reihe zu stellen und daher anzuraten sind.

Von allen diesen Reaktionen können also nach den Erfahrungen des Verf. mit Leichtigkeit und Gewähr für exaktes Ergebnis die Reaktion Arnolds, Schardingers, Sauls, Storchs und die Stärkereaktion verwandt werden. Die Reaktion mit Magnesiumsulfat ist zwecklos, das auf die Keimzahl und die Fermentation gestützte Verfahren hatte den Nachteil, daß es eine längere Beobachtung erfordert und den ersteren gegenüber keine weiteren Vorteile bietet.

Verf. wollte fernerhin beobachten, welchen Einfluß eine längere Aufbewahrung der Milch auf jede Reaktion haben könnte und stellte dabei

fest, daß die Guajakolreaktion mit dem zunehmenden Alter der Milch und der fortschreitenden Fäulnis an Stärke einbüßt. Die Reaktion Schardingers neigt dann — so fährt Verf. fort — dazu hin, mit dem Fortschreiten des Alters der Milch die zu seiner Realisation nötige Zeit abzukürzen. Auf die Reaktion mit Paraphenylendiamin übt eine lange Aufbewahrung der Milch nur wenig Einfluß aus, ebenso auf die Reaktion mit Stärke, KI und K_2O_2. Bei der Ortholreaktion wird nur eine unbedeutende Verspätung wahrgenommen.

Es können nach Verf. diese verschiedenen Methoden in der Praxis ohne Schwierigkeit verwandt werden. Bedient man sich dann gleichzeitig mehrerer derselben, so kann leicht und sicher der Erhitzungsgrad einer der Probe unterworfenen Milchprobe festgestellt werden.

Ceradini (Mailand).

Doby, Ueber die Bestimmung des Handelsformaldehyds und seine Anwendung als Beizmittel für Saatgut. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1907. p. 353.)

Verf. weist auf den oft recht verschiedenen Konzentrationsgrad der käuflichen Formaldehydlösungen hin und betont, daß dieser Punkt bei der Herstellung von Verdünnungen zum Zwecke des Beizens von Saatgetreide wohl zu beachten ist. Eine Anzahl Proben des in Ungarn im Handel erhältlichen Formalins schwankten in ihrem Formaldehydgehalt zwischen etwa 25 und 39 Proz. Verf. beschreibt ausführlich die chemischen Methoden, nach welchen die Formaldehydbestimmungen ausgeführt wurden. Befriedigende Resultate bei einfacher Handhabung lieferte das Verfahren von Lemme (Herstellung des Natriumhydrosulfit-Additionsproduktes und Titration mit Normalsäure unter Zugabe von Rosolsäure als Indikator).

Da das Formaldehyd in zu starker Konzentration die Keimfähigkeit der Sämereien beeinträchtigt, so ist es mit Rücksicht auf den stark differierenden Gehalt der Handelsware nicht angängig, das Beizen nach einem bestimmten Rezept auszuführen. Es ist daher den praktischen Landwirten zu raten, ihr Formalin vor dem Gebrauch auf seinen Formaldehydgehalt untersuchen zu lassen. Vogel (Bromberg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. d. Etatsjahr 1906, erst. von Julius Wortmann. Berlin (Parey) 1907. 324 p. 8⁰. 4 Taf. u. 72 Fig.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Kühl, Hugo, Ueber die Empfindlichkeit einiger in der Bakteriologie verwendeter Reagentien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 1. p. 94—96.)

Reichert, Karl jun., Gebrauchsanweisung zum Spiegelkondensor. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. Heft 5. p. 105—108. 1 Fig.)

Reichert, C., Neue Mikroskopstative mit Handhabe. D.R.G.M. 246 019. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. Heft 3. p. 57—60.)

v. **Rohr, Moritz,** Die binokularen Instrumente. Nach Quellen bearbeitet. Berlin (Springer) 1907. VIII, 223 p. 8°. 90 Fig. u. 1 Tab. 6 M.

Schulz, Hugo, Ein Apparat zur graphischen Darstellung von Gärungsvorgängen. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXX. 1907. Heft 1/2. p. 51—65. 4 Fig.)

Siede, Walter, Ueber einen einfachen mikrophotographischen Apparat. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. Heft 3. p. 62—64. 1 Fig.)

—, Ein neuer Apparat zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. Heft 4. p. 79—85. 7 Fig.)

Sineff, A., Ein vereinfachter Thermostat. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 2. p. 191—192. 1 Fig.)

Ueber einige mikroskopische Hilfsapparate der Firma Voigtländer u. Sohn, A.-G., Braunschweig. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. XIII. 1907. p. 34—37. 4 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Banks, Nathan, A catalogue of the Acarina, or Mites, of the United States. (Proc. U. S. Nat. Mus. Vol. XXXII. 1907. p. 595—625.)

Dobell, C. Clifford, Trichomastix serpentis n. sp. (Quart. Journ. of microsc. Sc. N. S. N. 203 [Vol. LI. P. 3] 1907. p. 449—458. 1 Taf. u. 2 Fig.)

Mirande, Marcel, Les plantes phanérogames parasites et les nitrates. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXLV. 1907. N. 507—509.)

Mayr, G., 2 Cynipiden. (Marcellia. Vol. VI. 1907. Fasc. 1.)

Mola, Pasquale, La ventosa apicale a chi è omologa? (Zool. Anz. Bd. XXXII. N. 2. p. 37—41. 3 Fig.)

—, Nuovi acari parassiti. (Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. N. 2. p. 41—44.)

Stoppel, Rose, Eremascus fertilis nov. spec. (Flora. Bd. XCVII. 1907. Heft 3. p. 332—346. 2 Taf. u. 6 Fig.)

Trotter, A., Cynips fortii n. sp. Nuovi zoocecidii della Flora italiana. Ser. 6. (Marcellia. Vol. VI. 1907. Fasc. 1.)

Vuillemin, Paul, Les bases actuelles de la systématique en mycologie. (Progressus rei botanicae. Bd. II. 1907. Heft 1. p. 1—226.)

Weise, J., Hispinae, Coccinellidae et Endomychidae en Argentinia. (Rev. del Museo de la Plata. T. XII. 1906.)

Biologie.

Aperlo, Giovanni, Contributo allo studio dello sviluppo degli anaerobi nel brodo tenuto a contatto dell' aria. (Riv. d'igiene e di sanità pubbl. Anno XVIII. 1907. N. 19. p. 588—597.)

Fuhrmann, F., Ueber Farbstoffbildung bei Bakterien. (Mitt. d. naturh. Ver. f. Steiermark. Bd. XLIII. 1907. Heft 1. p. 22—38.)

Garbowski, L., Ueber einen extrem verkürzten Entwickelungsgang bei zwei Bakterienspecies. (Biol. Centralbl. Bd. XXVII. 1907. N. 22. p. 717—720. 2 Fig.)

Henneberg, W., Zum Verhalten der Kulturheferassen in zusammengesetzten Nährlösungen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 40. p. 542—546; N. 41. p. 575—579; N. 42. p. 581—586; N. 44. p. 609—613. M. Fig.)

Herzog, R. O. und **Förth, Franz,** Ueber die Einwirkung einiger Dämpfe auf Preßhefe. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. CCL. 1907. Heft 5/6. p. 432—434.)

Marchal, Paul, Contributions à l'étude biologique des Chermes. (Troisième note.) Nouvelles observations sur le Chermes pini Koch. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 29. p. 340—342.)

Meisenheimer, Jakob, Ueber die chemischen Vorgänge bei den als Enzymreaktionen erkannten Gärungen. (Biochem. Centralbl. Bd. VI. 1907. N. 16 17. p. 621—633.)

Nienburg, Wilhelm, Beiträge zur Entwickelungsgeschichte einiger Flechtenapothecien. (Flora. Bd. XCVIII. 1907. Heft 1. p. 1—40.)

Pinoy, Ernest, Role des bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. [Fin.] (Ann. de l'Inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 9. p. 686—700.)

Rosenau, M. J., Pasteurization. (Journ. of the American med. assoc. Vol. XLIX. 1907. N. 13. p. 1093.)

Simon, J., Bakterienimpfung bei Anbau von Hülsenfrüchten. [Mitteilung der Königl. Pflanzenphysiologischen Versuchsstation Dresden.] (Sächs. landw. Ztschr. 1907. N. 33/34. 8 p.)

Taylor, A. E., On fermentation. (University of California Publicat. Pathology. Vol. I. 1907. N. 8. p. 87—341.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Christophers, S. R. and **Iyer, T.,** Seethapathy, The bacteriological examination of indian

waters. (Ann. Rep. bacteriol. section of the King Inst. of preventive med. 1906. Madras 1907. p. 12—20.)

Die Bedeutung der chemischen und bakteriologischen Untersuchung für die Beurteilung des Wassers. Nach den auf d. Versammlung d. Freien Vereinigung Deutscher Nahrungsmittelchemiker 1904 geh. Vorträgen von Prof. Dr. J. König u. Prof. Dr. R. Emmerich. Berlin (J. Springer) 1904. 25 p. 8⁰. Mit 1 Taf. (Aus: Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VIII. 1907. Heft 1.)

Portier, P. et **Richard J.**, Sur une méthode de prélèvement de l'eau de mer destinée aux études bactériologiques. (Bull. de l'inst. Océanogr. de Monaco. 1907. N. 97. 4 Fig.)

Wanklyn, J. A., Water analyse. A practical treatise on the examination of potable water. 11th. edit. London (Paul Trübner & Co.) 1907. 5,75 M.

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Die Anstalten zur technischen Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchgegenständen, die im Deutschen Reiche bei d. Durchführung d. Reichsgesetzes v. 14. Mai 1879 u. s. Ergänzungsgesetze von d. Verwaltungsbehörden regelmäßig in Anspruch genommen werden. Statist. Erhebungen im Auftr. d. Freien Vereinigung Deutscher Nahrungsmittelchemiker unter Mitw. bearb. von Dr. J. König und Dr. A. Juckenack. Berlin (J. Springer) 1907. XV, 308 p. 4⁰. (8⁰.).

Neufeld, C. A., Der Nahrungsmittelchemiker als Sachverständiger. Anleitung z. Begutachtung d. Nahrungsmittel, Genußmittel u. Gebrauchsgegenstände nach d. gesetzl. Bestimmungen. Mit prakt. Beispielen. Berlin (J. Springer) 1907. XIX, 477 p. 8⁰.

Fleisch.

Lebram, F., Die Fleischvergiftungen. (Ztschr. f. ärztl. Fortbildg. Jg. IV. 1907. N. 21. p. 648—652. 1 Fig.)

Milch, Molkerei.

Messner, Hans, Zur Frage der praktischen Durchführung der Milchkontrolle. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVIII. 1907. Heft 2. p. 50—57.)

Robertson, Robert, The milk supply of Edinburgh. (Journ. of the R. Inst. of public health. Vol. XV. 1907. N. 10. p. 610—614.)

Strelinger, Hermann, Perhydrasemilch nach Much und Römer. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVIII. 1907. Heft 1. p. 15—21.)

Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 2. p. 97—108.)

Weigmann, H., Das Reinzuchtsystem in der Butterei. (Milch-Ztg. Jg. XXXVI. 1907. N. 44. p. 518—521.)

Wein, Weinbereitung.

Capus, J., L'influence du greffage sur la qualité des vins. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. T. XXVIII. N. 720. p. 373—379; N. 721. p. 400—406.)

Dupont, E. et **Ventre, J.**, L'acide sulfureux en vinification et plus particulièrement dans la fabrication des vins rouges. (Ann. de l'école nat. d'agric. de Montpellier. Nouv. Sér. T. VII. 1907. Fasc. 2. p. 136—160.)

Gren, K. A., Ueber Stickstoffmangel von Apfelmosten als Ursache schleppender Gärung. (Ber. d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau Geisenheim a. Rh. f. d. J. 1906. Berlin 1907. p. 218—220.)

Langlade, M., L'ouillage des vins. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 83. p. 330.)

Pacottet, P., Chapeaux flottants, chapeaux submergés. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. T. XXVIII. N. 721. p. 397—400.)

dal Piaz, Das Filtrieren der Weinhefe. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 39. p. 387 —388. 4 Fig.)

Rousseaux, Eug., Généralités sur la fermentation alcoolique. (Rev. de viticulture. Année XIV. 1907. T. XXVIII. N. 719. p. 344—347.)

Sannino, F. A., Die Lüftung der Moste. (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 41. p. 475—476. [Agricoltura moderna. Okt. 1906.].)

Andere Nahrungsmittel.

Prall, Fr., Ueber Eierkonservierung. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. XIV. 1907. Heft 7. p. 445—481.)

Abfallstoffe, Desinfektion u. s. w.

Andrewes, F. W., Lessons in Disinfection and Sterilisation. London (Churchill) 1907. 4 M.

Bock, F., Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Autan. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 59—78.)
Derruau, E., Sur la valeur antiseptique réelle de l'oxygène. (Presse méd. Belge. Année LIX. 1907. N. 41. p. 981—982.)
Doerr, R. und **Raubitschek, H.**, Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 1. p. 77—81; Heft 2. p. 179—191.)
Frank, G., Prüfung des Desinfektionsmittels Autan. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 10—18.)
Hilgermann und **Kirchgaesser**, Schrankdesinfektion mit Formaldehyd. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 47—58.)
Ingelfinger, Einige Desinfektionsversuche mit Autan. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 1—9.)
Kirchgaesser und **Hilgermann**, Formaldehyddesinfektion mit Autan. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 35—46.)
Neumark, Eugen, Beitrag zur Frage der desinfizierenden Wirkung des Lichtes. Berlin (Schötz) 1907. 75 p. 8°. 1 Taf. (= Arb. a. d. hygien. Inst. d. k. tierärztl. Hochschule Berlin. N. 12.) 2,50 M.
Perdrix, L., Action antiseptique du méthanal sec aux différentes températures sur les germes microbiens et en particulier sur les spores du „Bacillus subtilis". (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 9. p. 701—749.)
Proskauer und **Schneider, Hans**, Einige Desinfektionsversuche mit Autan. (Klin. Jahrb. Bd. XVIII. 1907. Heft 1. p. 19—34.)
Rath, Julius, Neuere Desinfektionsmittel und Antiseptika. (Hyg. Centralbl. Bd. III. 1907. N. 8. p. 217—224.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Appel, Der falsche Mehltau des Weinstockes (Peronospora viticola) und seine Bekämpfung. (Flugblätter d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. N. 41.) Berlin (Parey) 1907. 4 p. 2 Fig.)
Bethune, C. J. S., Injurious insects of 1906 in Ontario. (37. Annual Rep. Entom. Soc. Toronto. 1907.)
Bouvier, E. S., La maladie du rouge des Sapins dans le haut Jura. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 13. p. 537—541.)
Fletcher, J., Insects injurious in Ontario crops in 1906. (37. Annual Rep. Entom. Soc. Ontario. Toronto 1907.)
Jarvis, T. D., Insect galls of Ontario, Canada. (37. Annual Rep. Entom. Soc. Toronto. 1907. 8°. 6 Taf.) 3 M.
Lüstner, O., Ueber eine Krankheit junger Apfelbäumchen. (Ber. d. k. Lehranst. f. Wein-, Obst- u. Gartenbau Geisenheim a. Rh. f. 1906. Berlin 1907. p. 148—151. 2 Fig.)
Lüstner, Gustav, Untersuchungen über die Peronospora-Epidemien der Jahre 1905 und 1906. (Ber. d. k, Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau Geisenheim a. Rh. f. 1906. Berlin 1907. p. 119—140.)
Mn., Die Reblaus in Württemberg im Jahre 1907. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. p. 150.)
Molz, E., Neuere Untersuchungen über die Entstehung und Bekämpfung der Chlorose der Reben. (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 44. p. 513—516.)
—, Untersuchungen über die Kartoffelfäule. (Ber. d. k. Lehranstalt für Wein-, Obst- u. Gartenbau Geisenheim a. Rh. f. 1906. Berlin 1907. p. 172—176.)
Pellegrini, Vittorio, La Cnethecampa pityocampa e modo di compatterla. (Atti Congresso Natural. Ital. Milano 1906, ersch. 1907. p. 744—746. 1 Fig.)
ne Stefani, T., Alcune galle dall erbario secco dell' orto botanico di Palermo. (Marcellia. Vol. VI. 1907. Fasc. 1.)
Wachtl, Fritz A., Die Nonne, Lymantria (Psilura) monache L. Naturgeschichte und forstliches Verhalten des Insekts, Vorbeugungs- u. Vertilgungsmittel. Im Auftrage des k. k. Ackerbauministeriums verf. 3. rev. u. vervollst. Aufl. Hrsg. v. k. k. Ackerbauministerium. Wien (Hof- u. Staatsdruckerei) 1907. IV, 40 p. 8°. 2 Taf. u. 11 Fig. —,70 M.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Bauer, Hülfsmittel bei der Bekämpfung der Peronospora. (Dtsche Landw. Ztg. Jg. L. 1907. N. 29. p. 114.)
—, Warum soll man die Weinberge gleich nach der Blüte spritzen? (Dtsche Landw.-Ztg. Jg. L. 1907. N. 29. p. 114.)
Beer, F. H., Bedeutung des Insektenfanggürtels für den Obstbaumzüchter. (Ztschr. d. Landw.-Kammer f. d. Pr. Schlesien. Jg. XI. 1907 Heft 35. p. 1092—1094. 6 Fig.)

Inhalt.

Referate.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 11.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Schlusswort an Herrn Prof. E. Buchner.

Von **Hugo Fischer**, Berlin.

Zum Schluß der Diskussion sei es auch mir verstattet, die beiden Standpunkte noch einmal in kurzen Worten festzustellen:

Buchner sieht im Sinne des alten „Vitalismus" einen diametralen Gegensatz zwischen „rein chemischen" und Lebensvorgängen, ich sehe Beziehungen, Aehnlichkeiten, Uebergänge. Buchner rühmt sich, die Gärungserscheinungen von den Lebensvorgängen abgetrennt zu haben, ich sehe sein Verdienst, das ich ihm niemals bestritten habe, darin, einen Lebensvorgang unserm Verständnis näher gebracht, einen wichtigen Pfeiler zu der Brücke beigetragen zu haben, die Lebloses und Lebendes verbindet; mir scheint, das Letztere wäre eigentlich mehr. Und so wage ich zu hoffen, daß der Unterschied in den Auffassungen nicht bleibend sein werde.

Obzwar ich der Folgerung ex consensu omnium wenig Beweiskraft beimesse, möchte ich doch betonen, daß 999 Promille aller Physiologen die letzte Aufgabe der Physiologie darin erblicken, die Vorgänge des Lebens auf chemische und physikalische zurückzuführen; wäre das nicht ein unglaublicher Nonsens, wenn ein diametraler Gegensatz bestünde?

Nun ein paar Worte über die Bezeichnung der alkoholischen Gärung als „Spaltung". Wenn ich ein hölzernes Brett spalte, so ist das sehr etwas anderes, als wenn ich es kreuz und quer zerteile und Stücke davon in anderem Zusammenhang wieder aneinanderfüge. Das Wesentlichste an der Gärung ist und bleibt die Umlagerung des Sauerstoffs, bei teilweiser Oxydation, teilweiser Reduktion der sechs Kohlenstoffatome; daß dabei die Kette auseinander fällt, steht in zweiter Linie. Zwar ist Buchner bei weitem nicht der einzige, der trotzdem das Wort „Spaltung" auf den Vorgang der Gärung anwendet; doch ist's ein Brauch, von dem der Bruch mehr ehrt als die Befolgung. Der ernstliche Wunsch, Klarheit zu schaffen, könnte also sehr wohl auch in dieser Richtung sich betätigen. — Unter „Spaltung der Disaccharide" wird zunächst jeder die Hydrolyse verstehen; im weiteren Sinne, aber schon weniger präzis und darum mißverständlich, kann man Hydrolyse und Vergärung der Spaltprodukte in den einen Begriff zusammenfassen — Buchner versteht aber l. c. unter Spaltung der Disaccharide die Vergärung der Monosaccharide ausschließlich der voraufgegangenen Hydrolyse der Disaccharide!

Auf das Gebiet des Persönlichen hinüber zu folgen, habe ich keinen Anlaß. Doch eine persönliche Erinnerung möchte ich hier wachrufen: In meinem ersten, jene Fragen behandelnden Aufsatze hatte ich mich mit Entschiedenheit gegen die Auffassung gewandt, als ob die Fortschritte der Enzymforschung uns berechtigten, einen Gegensatz zu konstruieren zwischen enzymatischen und vom Protoplasma selbst ausgehenden Reaktionen; als Musterbeispiel des von mir zu

bekämpfenden Standpunktes hatte ich einen Satz aus Franz Lafar, Technische Mykologie (1. Aufl.) zitiert. Der Erfolg war, daß ich einige Monate später von Lafar den willkommenen Antrag erhielt, für das „Handbuch" den Abschnitt über die chemischen Bestandteile der Pilze und Bakterien zu bearbeiten, und darin insbesondere die Enzymenlehre eingehender zu behandeln. Von Buchner, dessen Zymase ich durchaus anerkannt, und den ich nicht ausdrücklich bekämpft hatte, ward mir dafür der herausfordernde Anwurf zu teil, daß meine Auffassung geeignet sei, „die Entwickelung der Wissenschaft aufzuhalten" und „jeden Fortschritt in Frage zu stellen". — Das genügt!

Ueber die Zersetzung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. II.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und **A. Sabaschnikoff.**

Mit 1 Figur.

In meiner ersten Mitteilung über die Zersetzung des Kalkstickstoffes[1]) wurde dargelegt, daß zwar durch die Einwirkung des Wassers (ohne Mitwirkung von Mikroorganismen) eine Spaltung der in dem genannten Düngemittel vorhandenen stickstoffhaltigen Substanz, des Calciumcyanamids, in der Weise erfolgen kann, daß unter Abscheidung von Kalk Cyanamid bezw. Dicyandiamid entsteht; der weitere Stickstoffabbau erwies sich dagegen als das Werk verschiedenartiger ammoniakbildender Bakterien, die unter geeigneten Bedingungen den vorhandenen Stickstoff restlos in Ammoniak überführten. Das Verhalten der verschiedenen Reinkulturen bestätigte die aus chemischen Erwägungen resultierende Annahme, daß bei der Ammoniakbildung Harnstoff vorübergehend als Zwischenprodukt gebildet wird. Die unter Verwendung von Bodenextrakt bereitete Kalkstickstofflösung wurde durch die in der eingebrachten Erde enthaltenen Bakterien erst dann mit wünschenswerter Schnelligkeit zersetzt, nachdem durch Zugabe geringer Mengen von Asparagin und Traubenzucker (je 0,1‰) die Bedingungen für eine lebhafte Tätigkeit der Bakterien hergestellt waren. Vergleichsweise ausgeführte Versuche ergaben, daß die mehrmals erhitzte Lösung, in der durch die Einwirkung des strömenden Dampfes die Ammoniakbildung bereits eingeleitet war, nach der Impfung mit 10 Proz. Erde ungefähr in der gleichen Weise, jedenfalls nicht in geringerem Grade zersetzt wurde als die frisch bereitete, nicht erhitzte Lösung.

Alle weiterhin erschienenen Veröffentlichungen[2]), soweit sie sich auf Versuchsergebnisse stützten, bestätigten meinen Befund, daß die in der Kalkstickstofflösung wie in dem mit Kalkstickstoff gedüngten Boden wahrzunehmende Ammoniakbildung der Tätigkeit der Bodenorganismen

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 87, 389.

2) Behrens, J., Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1905. p. 770; Ashby, Journal of Agric. Science. Bd. I. 1905. p. 358 (Jahresber. f. Agrikulturchemie. 1905. p. 121); Kappen, Fühlings landwirtschaftl. Zeitung. 1907. p. 122.

zu danken sei; nur Stutzer[1]) stellte neuerdings die Behauptung auf, es handle sich hierbei um einen „einfachen chemischen Prozeß“, die Bakterien sind ihm von untergeordneter Bedeutung. Da er eigene Versuche in dieser Hinsicht nicht ausführte, und die erforderliche Beachtung der vorliegenden Literatur augenscheinlich für überflüssig hielt, so liegt auch kein Grund vor, auf seine durchaus irrige Behauptung an dieser Stelle näher einzugehen. Immendorff und dessen Mitarbeiter[2]) lehrten die primären Spaltungsprodukte näher kennen, die sich zunächst infolge der Einwirkung des Wassers aus dem Calciumcyanamid bilden; sie wurden gleichfalls durch ihre Untersuchungen dazu geführt, den Harnstoff als intermediäres Abbauprodukt anzusehen. Kappen konnte erneut konstatieren, daß die Ammoniakbildung unter dem Einfluß der Bodenbakterien ziemlich rasch und restlos verlaufen kann. P. Wagner und dessen Mitarbeiter[3]) bestimmten die Menge des entstehenden Salpeters; auch hierbei belief sich die Stickstoffumsetzung unter geeigneten Bedingungen auf 99 Proz.

Eine erhebliche Divergenz der Meinungen ergab sich nun aber in den letzten Jahren hinsichtlich der Bildung und Zersetzung des Dicyandiamids[4]). Die deutschen Autoren (v. Seelhorst, Immendorff, Kappen u. A.) fanden es so gut wie unzersetzlich und nicht zur Düngung brauchbar; italienische Autoren (Ulpiani, Perotti) wurden dagegen durch ihre Beobachtung zu der gerade entgegengesetzten Ansicht geführt. Da ich seiner Zeit zu den meisten meiner Versuche eine im strömenden Dampf sterilisierte Kalkstickstofflösung benutzte, und das Erhitzen nach allgemein herrschender Ansicht die Dicyandiamidbildung besonders befördern soll, so mußten natürlich die hierbei erlangten günstigen Resultate für Kappen (l. c.) ebenso überraschend sein wie sie für Perotti[5]) verständlich waren[6]).

Diesen Widerspruch zu lösen, mußte das eine Ziel unserer von neuem in Angriff genommenen Untersuchungen sein. Neben dem Kalkstickstoff war diesmal auch der seither in den Handel gelangte Stickstoffkalk mit zu berücksichtigen. Der Einfluß von Jahreszeit und Witterung sollte erneut geprüft und (nach Remys Vorgang) die Einwirkung einer Kalkstickstoffdüngung auf den Verlauf der Salpeterbildung im Boden festgestellt werden. Die bereits in der I. Mitteilung über die Kalkstickstoffzersetzung berührte Frage, ob es möglich sei, auch in einer Lösung, die nicht besondere Zugaben von Asparagin und Traubenzucker erhalten hatte, eine kräftige Ammoniakbildung zu erzielen, war gleichfalls erneut ins Auge zu fassen. Es erscheint dies um so mehr geboten, als Kappen in Ermangelung einer besseren Erklärung die Differenz zwischen meinen Versuchsergebnissen

1) Stutzer, Landwirtschaftl. Versuchsstat. Bd. LXV. 1907. p. 275.

2) Immendorff und Thielebein, Fühlings landwirtschaftl. Zeitung. 1905. p. 787; Kappen, l. c.; Immendorff und Kempski, Calciumcyanamid als Düngemittel. Stuttgart 1907.

3) Wagner, Dorsch, Hals und Popp, Landwirtschaftl. Versuchsstat. Bd. LXVI. 1907. p. 285.

4) Vergl. Immendorff, Calciumcyanamid als Düngemittel. p. 39 ff.

5) Perotti, Arch. farmacol. sperim. Vol. V. 1906. p. 385.

6) In seiner in diesem Blatte (Bd. XVIII. p. 50) veröffentlichen Arbeit sagt Perotti, daß aus meiner Veröffentlichung nichts in Bezug auf die durch die Einwirkung des Wassers veranlaßte Abspaltung von Cyanamid und Dicyandiamid zu entnehmen sei. Das ist indessen ein Irrtum. Sowohl an der eingangs zitierten, wie auch an einer späteren Stelle (l. c. p. 88 und 396) habe ich ausdrücklich auf diesen Vorgang hingewiesen.

und seiner Theorie auf die Gegenwart dieser geringen Zusätze (0,1 ‰) glaubte zurückführen zu müssen.

Um zunächst diese Frage der Methodik zu erledigen, sei auf folgende Resultate verwiesen:

Aus je 50 ccm Bodenextrakt + 0,5 ‰ K_2HPO_4 (geimpft mit je 5 g Erde) wurden an Ammoniakstickstoff (durch Erhitzen mit Magnesia) abdestilliert mg			Kalkstickstoff 2 ‰	Kalkstickstoff 3 ‰	Kalkstickstoff 6 ‰	Kalkstickstoff 12 ‰	Stickstoffkalk 2 ‰	Stickstoffkalk 3 ‰	Stickstoffkalk 6 ‰	Stickstoffkalk 12 ‰
steril			0,84	1,68	2,80	5,74	0,70	1,26	2,24	4,48
Ohne Asparagin und Traubenzucker	nach 3 Wochen	a	4,06	1,54	2,24	4,34	2,66	1,96	1,96	3,08
		b	3,64	1,54	2,24	4,76	2,80	1,82	1,82	3,50
		Mittel	3,85	1,54	2,24	4,55	2,73	1,89	1,89	3,29
		gegen steril	**+ 3,01**	**— 0,14**	**— 0,56**	**— 1,19**	**+ 2,03**	**+ 0,63**	**— 0,35**	**— 1,19**
	nach 6 Wochen	a	11,20	16,24	1,40	3,08	9,66	15,40	1,40	1,68
		b	11,34	15,96	1,12	3,08	12,18	14,28	1,40	2,42
		Mittel	11,27	16,15	1,26	3,08	10,92	14,84	1,40	2,05
		gegen steril	**+ 10,43**	**+ 14,47**	**— 1,54**	**— 2,68**	**+ 10,22**	**+ 13,58**	**— 0,84**	**— 2,43**
Mit je 0,1 ‰ Asparagin und Traubenzucker	nach 3 Wochen	a	7,56	4,90	1,96	3,64	7,78	7,42	2,24	3,78
		b	7,42	4,90	2,24	3,50	7,78	7,42	2,10	3,50
		Mittel	7,49	4,90	2,10	3,57	7,78	7,42	2,17	3,64
		gegen steril	**+ 6,65**	**+ 3,22**	**— 0,70**	**— 2,17**	**+ 7,08**	**+ 6,16**	**— 0,07**	**— 0,84**
	nach 6 Wochen	a	7,86	11,20	1,54	3,08	8,82	13,86	1,40	2,24
		b	10,16	13,72	1,68	2,80	8,26	11,62	1,40	2,10
		Mittel	9,01	12,46	1,61	2,94	8,54	12,74	1,40	2,17
		gegen steril	**+ 8,17**	**+ 10,78**	**— 1,19**	**— 2,80**	**+ 7,84**	**+ 11,48**	**— 0,84**	**— 2,31**

Wir hatten diesmal einen etwas humusreicheren Boden zum Versuche herangezogen; das zu den früheren Untersuchungen allein verwendete Extrakt aus Oberholzer Erde ließ, wie dargelegt wurde, ohne Asparagin-Traubenzuckerzusatz nur eine sehr geringe Kalkstickstoffzersetzung zu. Hier war dagegen auch in dem ohne Zusatz gebliebenen Extrakt die Zersetzung ziemlich lebhaft. Die Relationen bleiben, entgegen der Annahme Kappens, dieselben, doch ist die fördernde Wirkung der Asparagin-Traubenzuckerzugabe auch in diesem Falle so deutlich, daß diese im Interesse einer möglichst raschen Erledigung der Umsetzungsversuche jedenfalls zweckmäßig beizubehalten ist. Die Dauer von 6 Wochen ist, wie schon früher wiederholt gesagt und hier von neuem bestätigt wurde, für derartige Versuche zu lang. Ammoniakverdunstung, sowie Ammoniakassimilation trüben das Resultat. Ein Zusatz von 2 ‰ Kalkstickstoff bezw. Stickstoffkalk hat sich erneut als sehr geeignet erwiesen. Ueber 3 ‰ hinaus ist die Ammoniakbildung durch eine geringe Ammonfestlegung abgelöst worden. Wir haben demgemäß unsere Umsetzungsversuche wiederum in der Weise durchgeführt, daß je 50 ccm Bodenextrakt + 2 ‰ Kalkstickstoff bezw. Stickstoffkalk + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 0,1 ‰ Asparagin + 0,1 ‰ Traubenzucker mit je 5 g Erde geimpft,

und nach dreiwöchiger Versuchsdauer die darin enthaltenen Mengen an Ammoniakstickstoff durch Destillation mit Magnesia usta bestimmt wurden. Eine Vergrößerung der Impfmenge erhöht zwar naturgemäß den Betrag des umgesetzten Stickstoffs [1]), doch geben bereits die mit 10 Proz. Erde beschickten Parallelkolben gut übereinstimmende Resultate, ferner sind die in dieser Weise eingerichteten Versuche handlicher in der Ausführung als die mit größeren Erdmengen in Gang gebrachten, und endlich können die hierbei gewonnenen Ergebnisse mit den bei meinen früheren Untersuchungen erlangten Resultaten ohne weiteres verglichen werden. Es lag nach alledem also kein Grund zu einer Aenderung der Arbeitsweise vor.

Der Mechanismus der Kalkstickstoffzersetzung ist in den letzten Jahren wiederholt, aber mit recht wechselndem Ergebnis erörtert worden, insbesondere gingen, wie gesagt, hinsichtlich des Dicyandiamids die Meinungen weit auseinander. Nach den eingehenden Forschungen von Immendorff und dessen Mitarbeitern [2]) entständen in der sterilen Lösung infolge der Einwirkung des (kohlensäurehaltigen) Wassers folgende Spaltungsprodukte: 1) $(CNNH)_2Ca$ (einbasisches Kalksalz des Cyanamids; 2) $CNN(CaOH)_2 + 5\ H_2O$ (zweibasisches Kalksalz des Cyanamids); 3) $CNNH_2$ (Cyanamid); 4) $C_2N_4H_4$ (Dicyandiamid) und 5) $C_2N_2O_2Ca + 5\ H_2O$ (cyanamidokohlensaurer Kalk). Die Bildung des Dicyandiamids soll besonders durch die Gegenwart von Kohlen- oder Humussäure, sowie durch Erwärmen begünstigt werden. Das Dicyandiamid wird denn auch technisch durch Auslaugen des Kalkstickstoffes mit heißem Wasser und nachfolgendes Umkristallisieren gewonnen. Das so erhaltene Produkt ist, wie speziell Immendorff und Kappen nachwiesen, offenbar sehr schwer zusetzlich. Auch wir konnten, selbst in sehr verdünnten, mit Erde geimpften Dicyandiamidlösungen [3]), nie eine Ammoniakbildung konstatieren. Diese Befunde widersprechen durchaus den Angaben der italienischen Forscher (Ulpiani und Perotti), die besagen, daß gerade das Dicyandiamid es sei, das besonders leicht von den Bakterien angegriffen werde, und daß demgemäß alle Maßnahmen darauf gerichtet sein müßten, die Bildung dieser Substanz nach Möglichkeit zu fördern. — In meinen früheren Untersuchungen ist aber bereits der Schlüssel zur Lösung dieses Widerspruches gegeben. Ich hatte gezeigt, daß das Erhitzen der Kalkstickstofflösung in keiner Weise deren Zersetzungsfähigkeit beeinträchtigt, im Gegenteil mußte diese Maßnahme als für die Bakterientätigkeit förderlich angesehen werden. Kappen hat (l. c.) diese Angaben, ohne sie nachzuprüfen, kurzerhand bezweifelt und durch einige Experimente zu widerlegen versucht, bei denen er indessen nicht allein die Lösung, sondern auch gleich die in der Impferde vorhandenen Bakterien miterwärmte, die infolge dieser Behandlung naturgemäß nur noch in geringerem Grade wirken konnten; er glaubt irrtümlicherweise diese leicht begreifliche Tatsache durch eine

---

1) Bei entsprechenden Versuchen erhielten wir folgende Werte:

Impfmenge pro 50 ccm	5		10		20		40 g Erde	
an NH_3-Stickstoff gebildet	3,5	3,5	6,3	6,3	9,4	9,4	11,2	11,2 mg

2) Immendorff und Thielebein, Fühlings landwirtschaftl. Zeitung. 1905. p. 787; Kappen, ebenda. 1907. p. 122; Immendorff und Kempski, Calciumcyanamid als Düngemittel. p. 25.

3) Das Dicyandiamid war teils von der Cyanidgesellschaft, teils von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen.

4) Löhnis und Sabaschnikoff, Fühlings landwirtschaftl. Zeitung. 1908.

partielle Dicyandiamidbildung erklären zu müssen. Wir haben an anderer Stellle[4]) die nötige Richtigstellung gebracht, so daß es überflüssig erscheint, auf diesen, lediglich auf unrichtige Interpretation fehlerhaft angelegter Versuche basierten Einspruch, an dieser Stelle nochmals des näheren einzugehen. In Uebereinstimmung mit den Befunden der italienischen Forscher erwies sich auch in unserem Falle die aus der 5mal erhitzten Kalkstickstofflösung durch Kristallisation gewonnene Substanz als außerordentlich leicht zusetzlich. Reinkulturen von Bacterium Kirchneri führten unter im übrigen gleichen Versuchsbedingungen in Ammoniak über

von dem in der mehrmals erhitzten Kalkstickstofflösung enthaltenen Stickstoff	37,8 Proz.
von dem Stickstoff der auskristallisierten und wieder gelösten Substanz dagegen	52,2 „

Für Reinkulturen von Bacterium erythrogenes stellten sich die entsprechenden Werte auf 41,5 bezw. 55,5 Proz. Perotti[1]) gibt an, bei einer eingehenden physikalisch-chemischen Prüfung die in Rede stehende Substanz als identisch mit dem Dicyandiamid gefunden zu haben. Er teilt auch eine Titrationsmethode mit, die uns jedoch ganz unsichere Resultate gab[2]). Jedenfalls aber lehrt die total verschiedene Zersetzbarkeit des Dicyandiamids und der aus der erhitzten Kalkstickstofflösung zunächst gewinnbaren Substanz, daß es sich um zwei verschiedene Körper handelt. In der erhitzten Kalkstickstofflösung ist kein Dicyandiamid vorhanden. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß jene leicht zersetzliche Substanz, welche die italienischen Forscher in den Händen hatten und deren Verhalten sie zu ihrer irrigen Ansicht hinsichtlich der Zersetzbarkeit des Dicyandiamids verleitete, als die isomere Verbindung Dicarbimid[3]) anzusprechen ist. Sie scheint bei den weiteren Manipulationen (Umkristallisieren und Trocknen) leicht der Umlagerung in Dicyandiamid anheimzufallen, da diese Substanz ja eben in solcher Weise leicht zu gewinnen ist. Von vornherein hat auch die Annahme entschieden viel für sich, daß in dem unveränderten Kalkstickstoff nicht $C\genfrac{}{}{0pt}{}{\diagup N = Ca}{\diagdown\!\!\equiv N}$ (Calciumcyanamid), sondern die Verbindung $C\genfrac{}{}{0pt}{}{= N\diagdown}{= N\diagup}Ca$ (Calciumcarbimid) vorhanden ist, denn es ist naturgemäß viel eher zu erwarten, daß die Bakterien die gleichartig gebundenen Stickstoffatome abbauen, als daß sie die beiden ungleichartigen Atome in gleicher Weise in Ammoniak überführen. Die schon vor längerer Zeit angeführten Arbeiten Drechsels[4]) haben indessen keinen Anhalt dafür geliefert, daß das Carbimid existiert, und damit stimmen die in den letzten Jahren ausgeführten Untersuchungen überein; es wird denn auch das Calciumcyanamid allgemein als die im Kalkstickstoff bezw. Stickstoffkalk enthaltene stickstoffhaltige Substanz angesehen. Daß man sich allerdings nicht allzu sehr allein auf chemische Prüfungen verlassen darf, sondern

1) Perotti, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 51.

2) Nach brieflicher Mitteilung haben die Chemiker der Cyamidgesellschaft in Berlin die gleiche Erfahrung damit gemacht.

3) Die Doppelverbindung des sogenannten Carbodiimids müßte allerdings Dicarbotetrimid heißen. Wie wir aber bereits a. a. O. darlegten, dürfte es zweckmäßiger sein, analog dem Carbamid von einem Carbimid (nicht Carbodiimid) zu sprechen, dessen Polymerisationsprodukt den oben gebrauchten einfacheren Namen zu führen hätte.

4) Drechsel, Journal f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XI u. Bd. XXI.

auch in diesem Falle mit großem Nutzen biologische Reaktionen zu Hilfe nehmen kann, lehren die in Bezug auf das Dicyandiamid gesammelten Erfahrungen. Nach unseren Beobachtungen scheint es nun allerdings so, als ob entsprechend den auf chemischem Wege erlangten Resultaten in dem unveränderten Kalkstickstoff wirklich Cyanamid vorhanden ist, das ebenso wie sein Polymerisationsprodukt von den Bakterien dann nicht angegriffen wird, wenn es in einigermaßen beträchtlichen Mengen zugegen ist. Wir sterilisierten die Kalkstickstofflösung zum Teil, wie gewöhnlich, im strömenden Dampf, ein anderer Teil wurde durch Filtration (im Maassenschen Apparat) keimfrei gemacht. Zur Impfuug dienten Reinkulturen von Bacterium erythrogenes und Bact. Kirchneri. Es fanden sich nach 3-wöchiger Versuchsdauer im Vergleich zu den aus den sterilen Kontrollkolben durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoffmengen

	in der erhitzten Lösung	in der nicht erhitzten Lösung
geimpft mit Bact. erythrogenes	+ 8,86 mg	— 0,14 mg
„ „ „ Kirchneri	+ 8,59 „	— 0,14 „

Eine Cyanamidlösung wird also, wie bereits Ulpiani[1]) fand, selbst wenn die Konzentration verhältnismäßig gering ist, nicht zersetzt. Da aber der Kalkstickstoff im Boden meist ziemlich leicht der Ammoniakbildung anheimfällt, und auch bei den mit Erde durchgeführten Umsetzungsversuchen die nicht erhitzte Lösung ebensogut zersetzt wird wie die erhitzte, so lag es nahe, nunmehr zu prüfen, wodurch denn das Cyanamid in diesen Fällen derart beeinflußt wird, daß die Bakterien in Tätigkeit treten können. Es war hierbei vor allem an die Kohlensäure zu denken, die sich bereits bei einigen Untersuchungen Kappens als entschieden förderlich[2]) gezeigt hatte, sowie an die absorbierenden Substanzen des Bodens auf deren Bedeutung für die Umsetzung des Kalkstickstoffes im Boden durch v. Seelhorst[3]) und Immendorff[4]) hingewiesen worden war. Die filtrierten Lösungen wurden demgemäß zum Teil mit 10 g (etwas eisenhaltigem) Sand bezw. Sand-Tongemischen (in wechselnden Verhältnissen) beschickt; in einer Reihe wurde diesem Gemisch als sehr wirksame absorbierende Substanz auch ein wenig eines Kali-Aluminiumzeolithes von der Firma Schuchardt-Görlitz (1 Proz. des Gemisches) beigefügt. Sand und Ton wurden trocken bei 200° sterilisiert, dagegen wurde von einer Sterilisation des Zeolithes, wegen seiner mangelnden Hitzebeständigkeit. Abstand genommen; in der betreffenden Versuchsreihe waren also Fremdinfektionen nicht ausgeschlossen, die indessen am Resultat nichts Wesentliches ändern können. Zum Vergleich wurden einige Kolben mit im Dampf sterilisierter Lösung herangezogen. Zur Impfung diente eine Reinkultur von Bacterium Kirchneri. Nach der Impfung wurde in die eine Hälfte der Kolben Kohlensäure eingeleitet. Nach 3-wöchiger Versuchsdauer waren in je 50 ccm Lösung an Ammoniakstickstoff (durch Destillation mit Magnesia usta) gegenüber den sterilen Vergleichskolben nachweisbar (in Milligramm):

1) Ulpiani, Vortrag in der Società chimica di Roma, 10. April 1906; Chemikerzeitung. 1906. p. 460.

2) Merkwürdigerweise hat Kappen übersehen, daß auch diese Tatsache der von ihm vertretenen Hypothese, derzufolge sich unter dem Einfluß der Wärme sowie der Kohlensäure im Boden Dicyandiamid bilden soll, durchaus widerspricht.

3) v. Seelhorst und Müther, Journal f. Landwirtschaft. Bd. LIII. 1905. p. 329.

4) Immendorff, l. c. p. 45.

		ohne CO_2	mit CO_2
in der 5mal erhitzten Lösung		+ 5,46	+ 8,54
in der durch Porzellan filtrierten Lösung	ohne Zusatz	— 0,14	— 0,28
	mit Sand	+ 0,98	+ 1,47
	„ Sand-Tongemisch (Verhältnis 80 : 20)	+ 1,54	+ 1,96
	„ „ „ („ 60 : 40)	+ 1,82	+ 2,66
	„ „ „ (80 : 20) + Zeolith (1 Proz.)	+ 1,82	+ 3,08

Die Kohlensäure an sich macht also, wie aus der zweiten Querreihe zu ersehen ist, die Substanz noch nicht für die Bakterien angreifbar. Dagegen wirkt sie dann entschieden förderlich, wenn durch voraufgegangene Erhitzung oder durch Zugabe absorbierend wirkender Substanzen[1]) den Bakterien die Möglichkeit zu lebhafter Tätigkeit gegeben ist. Noch mehr als in der besprochenen Versuchsreihe trat dies in einer anderen hervor, in der die verwendete Kultur von Bact. Kirchneri bei 14-tägiger Versuchsdauer sich energischer betätigte, und folgende Stickstoffmengen (mg pro 50 ccm) in Ammoniak überführte:

		ohne CO_2	mit CO_2
Lösung durch Porzellan filtriert	mit Sand	+ 1,12	+ 3,36
	„ Sand-Tongemisch (70 : 30)	+ 1,26	+ 3,78
	„ „ „ + Zeolith (2 Proz.)	+ 2,24	+ 6,16

Was nun weiterhin die vergleichende Prüfung der Zersetzbarkeit von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk anlangt, so ist zunächst daran zu erinnern, daß die bisher in dieser Richtung ausgeführten Düngungsversuche[2]) Resultate zeitigten, die bald für das eine, bald für das andere Präparat ein wenig günstiger ausfielen; die Unterschiede waren indessen nie beträchtlich. Das ist auch recht wohl verständlich, wenn man berücksichtigt, daß es sich in beiden Fällen um die gleiche stickstoffhaltige Substanz handelt, während allerdings in Bezug auf die Nebenbestandteile Differenzen vorhanden sind; insbesondere ist der Stickstoffkalk bekanntlich durch eine für das in diesem Falle angewandte Herstellungsverfahren wichtige Chlorcalciumbeimischung (10 Proz.) charakterisiert. Die oben zur Illustrierung des Einflusses der Asparagin-Traubenzuckerzugabe mitgeteilten Zahlen ließen bereits erkennen, daß die beiden Substanzen auch bei Umsetzungsversuchen ein nahezu völlig übereinstimmendes Verhalten zeigten, das gleiche wird aus den sogleich anzuführenden Resultaten zu ersehen sein, die bei der Prüfung des Einflusses von Jahreszeit und Witterung erlangt worden sind. Die Gegenwart des Chlorcalciums scheint dagegen auf die Art der neben den eigentlichen Ammoniakbildnern vorhandenen Begleitbakterien einen deut-

1) Hinsichtlich der Intensität der Cyanamidabsorption wurden einige Versuche mit der zu den meisten unserer Umsetzungsversuche benutzten Oberholzer Erde ausgeführt. Von dem in einer 2-prom. Lösung vorhandenen Stickstoff wurden $^2/_3$ absorbiert, fast die gleiche Menge wie aus einer Ammonsulfatlösung gleicher Konzentration. Auch das Porzellanfilter pflegt sehr beträchtliche Stickstoffmengen zurückzuhalten. — Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sich bei diesem Absorptionsprozeß eine analoge Umlagerung der Stickstoffatome (in die Imidbindung) vollzieht, wie dies beim Erwärmen der Cyanamidlösung offenbar der Fall zu sein scheint. Diese Frage bleibt näher zu untersuchen. Jedenfalls aber handelt es sich hier um eine sehr bedeutungsvolle Tatsache, die für die Brauchbarkeit der cyanamidhaltigen Düngemittel von großer Wichtigkeit ist. Der darin enthaltene Stickstoff muß auf chemisch-physikalischem Wege zunächst in eine für die Bakterien angreifbare Form übergeführt werden; es ist dies eine unerläßliche Vorbedingung für die auf biologischem Wege von statten gehende Ammoniakbildung.

2) Vergl. die von Kempski herrührende Zusammenstellung in der von ihm in Gemeinschaft mit Immendorff herausgegebenen Schrift über das „Calciumcyanamid als Düngemittel", p. 50—116, sowie Wagner, Dorsch, Hals und Popp, Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVI. 1907. p. 285.

lichen Einfluß auszuüben. Während aus der Kalkstickstofflösung[1]) allein 2 Arten isoliert werden konnten, die sich als identisch mit Bact. lipsiense und erythrogenes erwiesen, erhielten wir aus der Stickstoffkalklösung außerdem Bact. vulgare var. Zopfii, Bact. fluorescens, putidum, punctatum, annulatum und coli, bei einer späteren Isolierung auch noch Bact. violaceum und turcosum. Infolge des Vorherrschens des Bact. fluorescens auf den Stickstoffkalkgelatineplatten werden diese sehr rasch vollständig verflüssigt. Aus einer 3-prom. Stickstoffkalklösung wurde Bact. fluorescens nahezu in Reinkultur erhalten.

Bact. Kirchneri, das in der im Juli 1904 untersuchten Erde überaus häufig war, konnte sowohl in einer im Herbst 1906 wie in einer zweiten im Frühjahr 1907 geprüften Erdprobe nicht nachgewiesen werden. Statt dessen stellte sich regelmäßig Bact. erythrogenes ein. Es ist nicht uninteressant, daß es sich auch bei dieser, den beiden wirksamsten der bisher bekannten Cyanamidzersetzern verwandten Art abermals um eine Species handelt, die gleichfalls zur Harnstoffspaltung befähigt ist[2]).

Durch die verschiedenen Reinkulturen, denen vergleichsweise die von den früheren Untersuchungen her aufbewahrten Stämme von Bacterium Kirchneri und lipsiense an die Seite gestellt wurden, kamen innerhalb von 3 Wochen in je 50 ccm 5mal im strömenden Dampf erhitzter Stickstoffkalklösung folgende Stickstoffmengen (in Milligramm) zum Abbau[3]):

	a	b	gegen steril		a	b	gegen steril
Bact. erythrogenes, Stamm I	8,82	8,96	**6.93**	Bact. annulatum	2,52	2,52	**0,56**
„ „ „ II	1,96	2,38	**0.21**	„ punctatum	2,52	2,38	**0,44**
„ Kirchneri (Sammlungskultur)	8,96	8,82	**6,93**	„ coli	2,38	2,52	**0,44**
„ lipsiense (Sammlungskultur)	8,12	8,26	**6,23**	„ violaceum	2,24	2,38	**0,37**
„ lipsiense, Stamm I	2,94	2,94	**0,98**	„ fluorescens, Stamm I	2,24	2,24	**0,30**
„ „ „ II	1,82	1.96	—	„ „ „ II	1,96	2,38	**0,21**
„ vulgare var. Zopfii	3,78	3,92	**1,89**	„ turcosum	2,10	2,10	**0,14**

Diese Ergebnisse ähneln sehr denjenigen, die sich bei meinen früheren Untersuchungen herausstellten. Dem Bacterium Kirchneri und lipsiense tritt das auch in anderen Beziehungen nahestehende Bact. erythrogenes zur Seite. Die verschiedenen Stämme können allerdings in ihrer Wirksamkeit beträchtlich differieren. Schwächer wirksam erscheint (wie früher) Bacterium vulgare var. Zopfii, und sehr gering ist die Ammoniakbildung bei sämtlichen auf der rechten Seite der Tabelle zusammengestellten Arten, wie dies für Bacterium fluorescens bereits bekannt war.

Die drei am kräftigsten wirksamen Formen wurden nun auch vergleichsweise in Kalkstickstoff-, Stickstoffkalk- und in mit 10 Proz. Chlor-

1) Zur Isolierung der beteiligten Bakterien diente Kalkstickstoff- bezw. Stickstoffkalkgelatine, die nach dem früher (dieses Blatt. Bd. XIV. p. 97) angegebenen Rezepte bereitet wurde.

2) Vergl. Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 716.

3) Aus der sterilisierten Lösung wurden durch Magnesia usta 1,96 mg Stickstoff ausgetrieben.

calcium versetzte Kalkstickstofflösung eingeimpft. Die in analoger Weise erlangten Resultate sind diese:

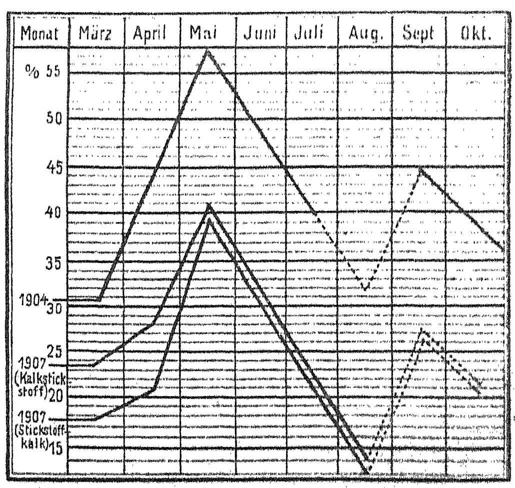
	Kalkstickstofflösung	Stickstoffkalklösung	$CaCl_2$-haltige Kalkstickstofflösung
Bacterium Kirchneri	6,77	6,93	5,95
„ lipsiense	5,98	6,23	5,46
„ erythrogenes	7,04	6,93	5,39

Die Uebereinstimmung ist also, soweit die beiden Düngemittel in Frage kommen, so gut wie vollständig. Die nachträgliche Zugabe des Chlorcalciums hat eine geringe Depression zur Folge gehabt; daß sich diese im Stickstoffkalk nicht bemerklich macht, dürfte wohl auf Umsetzungen zurückzuführen sein, die das Clorcalcium im technischen Prozesse erfährt.

Ziemlich weitgehende Uebereinstimmung im Verhalten der Kalkstickstoff- und Stickstoffkalklösung einerseits und den Ergebnissen meiner früheren Untersuchungen andererseits trat auch weiterhin bei der Prüfung des Einflusses von Jahreszeit und Witterung deutlich hervor. Es wurden in den mit Erde beimpften Kolben (im Mittel von je 2 Parallelen) in Prozenten des in Form von Kalkstickstoff bezw. Stickstoffkalk gegebenen Stickstoffs innerhalb 3 Wochen umgesetzt:

	1903/04				1907					
	Sept.	März	Mai	Juli	März	April	Mai	Juli	Aug.	Okt.
Bodentemperatur °C in 10 cm Tiefe	15,6	2,2	9,2	16,4	2,4	5,0	9,0	13,2	15,8	10,8
Bodenfeuchtigkeit, Gew.-Proz.	14,0	19,8	15,4	11,9	16,0	13,5	11,2	17,2	15,8	13,2
Zersetzung des Kalkstickstoffs	44,7	30,4	57,3	39,3	23,6	28,1	40,8	22,4	14,1	21,8
„ des Stickstoffkalks	—	—	—	—	17,7	20,8	39,0	20,1	13,3	20,7

Die Erde entstammte in beiden Fällen dem Oberholzer Versuchsfelde; zu den früheren Versuchen diente ein reich gedüngter, in hoher Kultur stehender Acker, während 1907 ein seit längerer Zeit weder mit tierischem noch mit stickstoffhaltigem mineralischen Dünger versehenes Feld benutzt wurde. Hierin findet jedenfalls die durchweg geringere Intensität bei den neueren Umsetzungsversuchen ihre Erklärung. Auffallend aber ist, wie ein Blick auf die nebenstehend wiedergegebenen, nach jenen Zahlen konstruierten (an den noch unsicheren Stellen punktierten) Kurven sofort erkennen läßt, der trotz sehr ungleicher Jahreswitterung in überraschender Weise übereinstimmende Verlauf der Zersetzungskurven. Dem steilen Anstieg bis



zum Mai folgt ein ebenso rapider Abfall im Sommer, während im zeitigen Herbst noch einmal die Bakterientätigkeit mit erneuter Kraft einsetzt. In dem durch abnorme Trockenheit ausgezeichneten Sommer 1904 glaubte ich, da über spezifische Einflüsse der Jahreszeit zu jener Zeit noch nichts bekannt war, daß das rasche Sinken der Intensitätskurve im Juli vor allem auf die geringe Feuchtigkeit des Bodens zurückzuführen sei. Der Sommer 1907 war nun keineswegs durch Wassermangel ausgezeichnet, und doch verlaufen die Kurven völlig parallel. Auch die Einwirkung der Temperatur als solcher verschwindet vollständig gegenüber der Richtung, welche die Jahreszeit der Intensitätskurve aufzwingt.

Das gleiche Verhalten, das wir in unserem Klima an den höheren Gewächsen wahrzunehmen gewohnt sind, die im Frühjahr zu bestimmter Zeit austreiben, zwar beeinflußt, aber nicht bestimmt, durch die herrschende Witterung, die im Sommer ein Nachlassen der vegetativen Tätigkeit (zur Zeit der Fruchtbildung) erkennen lassen, um später im sogenannten Herbsttrieb noch einmal zu regerem Leben zu erwachen, ehe sie in die Winterruhe eintreten, dasselbe Verhalten ist also auch, mehr oder minder deutlich, an den verschiedenen Gliedern der Mikroflora des Bodens wahrzunehmen. Die von Parr auf meine Veranlassung hin ausgeführten Untersuchungen über den Abbau des Stickstoffs aus verschiedenen organischen Verbindungen hatten zwar diejenigen meiner früheren Untersuchungsergebnisse bestätigt, aus denen hervorging, daß die Zersetzung mancher organischer Substanzen (Knochenmehl, Pepton Merck) nur sehr wenig von Jahreszeit und Witterung beeinflußt wird; andere Präparate (Pepton Witte und Schering) lieferten dagegen sehr wechselvolle Kurven. Ein Vergleich der Kalkstickstoffkurven (von 1904 und 1907) mit jenen früher[1]) mitgeteilten Peptonzersetzungskurven (aus dem Jahre 1906) läßt ohne weiteres hervortreten, daß hier wie dort dem schroffen Anstieg bis zum Mai ein ebenso rascher Abfall bis zum Juli folgte. Hinsichtlich der Wirksamkeit der stickstoffbindenden Bodenorganismen scheint es sich ähnlich zu verhalten, wie schon vor einiger Zeit gelegentlich[2]) erwähnt wurde und demnächst näher zu zeigen sein wird. Sehr wünschenswert wäre es jedenfalls, wenn diese Fragen auch an anderen Instituten mitbearbeitet würden. Denn sollten jene charakteristischen Erscheinungen in der Hauptsache wenigstens — nebensächliche Abweichungen werden naturgemäß nicht ausbleiben — in größerem Umfange Bestätigung finden, dann wären wir auch dem erstrebenswerten Ziele wesentlich näher gerückt, den biologischen Charakter verschiedener Böden vergleichsweise mit hinreichender Zuverlässigkeit feststellen zu können. Die großen Schwankungen der Intensitätskurven, die ich seinerzeit zuerst feststellte, nötigten mich damals zu dem Ausspruch[3]), daß hinsichtlich vergleichender Bodenuntersuchungen einige Reserve geboten sei, da sich hierbei „Differenzen herausstellen könnten, die weniger durch den eigentlichen biologischen Charakter der betreffenden Erden als vielmehr durch den augenblicklichen Zustand, in dem sich der Bakterienbestand zur Zeit der Probenahme befand, hervorgerufen wurden". Sollte es sich jedoch auch weiterhin an verschiedenen Orten Deutschlands zeigen, daß wir im allgemeinen damit rechnen dürfen, im Mai die Bodenflora

1) Löhnis und Parr, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. p. 521.
2) l. c. Bd. XVIII. p. 522. Anm. 1.
3) l. c. Bd. XV. p. 434.

in höchster Tätigkeit anzutreffen, so wäre damit für die Handlichkeit der Methodik entschieden viel gewonnen.

Wie die Schwankungen der Temperatur und der Feuchtigkeit, so übt auch die Art der Nutzung des Feldes augenscheinlich keinen sehr weitgehenden Einfluß auf den Verlauf der Intensitätskurven aus. Bei meinen im Jahre 1904 ausgeführten Untersuchungen war das Feld mit Kartoffeln bestanden, Parr entnahm die zu seiner Arbeit nötigen Erdproben einem Stück Landes, das weder bearbeitet noch bestellt wurde, um jeden sekundären Einfluß nach Möglichkeit auszuschalten, jetzt (1907) handelte es sich um eine mit Hafer bestandene Flur. Gewisse Einflüsse werden allerdings bei genauer Prüfung auch der Art der Bodenbenutzung zugeschrieben werden müssen. Daß aber das durch den Wechsel der Jahreszeit veranlaßte Auf- und Absteigen der Intensitätskurve auch durch diesen Faktor nicht wesentlich beeinflußt wird, muß nach allen bisherigen Beobachtungen als sehr wahrscheinlich angenommen werden.

Schließlich haben wir auch noch einige Beobachtungen darüber angestellt, welchen Einfluß eine Kalkstickstoff- bezw. Stickstoffkalkdüngung auf den Verlauf der Nitrifikation im Boden unseres Versuchsfeldes auszuüben vermag. Ein Einblick in dieser Hinsicht war notwendig, da eine ungestörte Salpeterbildung naturgemäß von großer Bedeutung für eine möglichst vollständige Ausnutzung der gegebenen Düngung ist. Remy[1]) hat auf leichtem Boden deutliche Hemmungen, namentlich der Stickstoffassimilation, als Folge einer Kalkstickstoffdüngung konstatiert, während auf schwererem Boden weder diese Umsetzung noch auch die Salpeterbildung eine deutlich wahrnehmbare Beeinträchtigung erfuhr. Der Boden des Oberholzer Versuchsfeldes ist gleichfalls als schwerer Lehm anzusprechen. Bei 4-wöchiger Versuchsdauer wurden in 1 ‰ Ammonsulfat-Bodenextrakt folgende Stickstoffmengen (in Milligramm) nitrifiziert:

wenn die Probe genommen wurde	am 19. VI.		am 23. VII.	
von der ungedüngten Parzelle	3,78	3,50	2,80	2,94
„ „ Kalkstickstoffparzelle[2])	3,78	3,78	3,22	3,08
„ „ Stickstoffkalkparzelle[2])	3,50	3,50	3,22	3,08

Es haben sich also in Uebereinstimmung mit Remys Befunden auch in dem von uns geprüften Falle keine durch Kalkstickstoff oder Stickstoffkalk hervorgerufenen Hemmungen des Nitrifikationsprozesses konstatieren lassen.

Leipzig, November 1907.

1) Remy, Landw. Jahrb., Bd. XXXV. Ergänz.-Bd. IV. 1906. p. 123.
2) Gedüngt wurde mit 30 kg Stickstoff pro ha.

Nachdruck verboten.

Der Entwickelungsgang des Endophyllum Euphorbiae silvaticae (DC) Winter und der Einfluss dieses Pilzes auf die Anatomie seiner Nährpflanze Euph. Amygdaloides.

Von Dr. phil. **Wilh. Müller,** Bern.

Bekanntlich lebt dieser, von älteren Autoren als Aecidium Euphorbiae silvaticae bezeichnete Rostpilz in den Stengeln und Blättern der Euphorbia Amygdaloides, einer vorzüglich auf Kalkboden wachsenden und daher im schweizerischen Jura häufigen Pflanze. Die Aecidiennatur seiner Fruchtkörper ist schon im Jahre 1854 von Tulasne (1) widerlegt worden durch den Nachweis, daß die vermeintlichen Aecidiosporen nach Art der Teleutosporen keimen durch Bildung von Basidien. Dieser (2) und mit ihm auch de Bary stellten ferner die wichtige Tatsache fest, daß, wie bei verschiedenen anderen Uredineen, auch hier das Mycel in Stengel und Rhizom perenniert. Letzterer beschrieb zudem den äußeren Habitus, der durch den Pilz bewirkten Deformationen und suchte dessen Entwickelungsgang festzustellen, was ihm aber infolge Absterbens seiner Versuchspflanzen nicht gelang. Auf Veranlassung meines verehrten Lehrers, Herrn Prof. Ed. Fischer, suchte ich die in der Kenntnis des Entwickelungsganges dieses Endophyten bestehenden Lücken zu ergänzen.

I. Der Entwickelungsgang.

In der Nähe von Twann am Bielersee (Schweiz) fand ich Mitte Mai 1905 reichliche Fruktifikationen des Endoph. Euphorbiae auf Euph. Amygdaloides. In erster Linie stellte ich die Keimungsverhältnisse der „Aecidiosporen" fest, bezugnehmend auf eine Bemerkung Ed. Fischers (Die Uredineen der Schweiz. p. 438) von folgendem Wortlaut: „Ich habe zwar für die in der Schweiz auf Euph. Amygdaloides auftretenden Aecidien die Sporenkeimung nicht beobachtet, es dürfte aber wohl keinem Zweifel unterliegen, daß sie sich ebenso verhalten, wie die von Tulasne untersuchten." Die mit Wasser auf einen Objektträger verstäubten und feucht gehaltenen Sporen entwickelten, genau wie Tulasne es beobachtete und auch zeichnete, im Verlaufe einer Nacht Basidien mit meist 4 Basidiosporen, die ihrerseits sofort Keimschläuche bildeten. Die Sporen zeigen also bei uns, wie zu erwarten war, kein abweichendes Verhalten; der Pilz gehört zu den Leptoformen.

Es stellte sich alsdann die weitere Frage: Wo geschieht die Infektion durch Basidiosporen? Da sind verschiedene Möglichkeiten denkbar:

Zur Zeit der Sporenreife des Endophyllum können wir nämlich an den ausgewachsenen Exemplaren von Euph. Amygdaloides folgende Teile unterscheiden: a) vorjährige Sprosse, deren im ersten Jahre entstandene Stengelpartie verholzt ist und derbe, auf der Unterseite rötliche Blätter trägt, die gewöhnlich über halber Stengelhöhe rosettig gedrängt sind. Der obere, im laufenden, also zweiten Jahre zur Ausbildung gelangte Teil dieser Sprosse ist ein beblätterter Gipfeltrieb, der entweder mit einem Blütenstand abschließt oder steril bleibt. — b) Diesjährige, krautige Triebe mit zarten, auf die ganze Länge des Stengels

verteilten, hellgrünen Blättern. — c) Rhizomknospen, die im nächsten Jahre austreiben werden.

Danach kommen für die Infektion 3 Fälle in Betracht: Die Keimschläuche können eindringen:

1) in die Blätter der 2-jährigen Triebe, und zwar in die vorjährigen oder die diesjährigen;

2) in die Blätter, resp. den Vegetationspunkt der jungen, einjährigen Sprosse;

3) in die Rhizomknospen.

Fall 1 ist sehr unwahrscheinlich, da diese Sprosse ja im zweiten Winter absterben. Dagegen liegt es sehr nahe, den Fall 2 anzunehmen, denn die Fruktifikationen des Pilzes entstehen ja an dem im folgenden Jahre entstehenden Gipfeltrieb der jetzt einjährigen Sprosse. Der erste und bis dahin einzige Versuch, um den Ort der Infektion festzustellen — er wurde von de Bary (1) ausgeführt — spricht stark für diese Möglichkeit. Der direkte Beweis ist jedoch noch nicht erbracht. De Bary machte folgende Beobachtung: Er säte Sporen auf die Blätter der Nährpflanze aus und stellte fest, daß die Keimschläuche der Basidiosporen sich gegen die Oberhaut der Blätter krümmen und ihre Enden fest auf die Epidermiszellen aufdrängen. „Auf den derben, überwinterten Blättern hat es hierbei sein Bewenden. Die Keime durchbohren die Wände der Epidermiszellen nicht. Auf den jungen, in dem nämlichen Frühling entwickelten Blättern (de Bary meint wohl diejenigen der „dies"jährigen Sprosse) dagegen dringen die Keimschläuche sofort in die Oberhautzellen und durch diese in das Parenchym ein, um hier sogleich zu einem reichverzweigten Mycel auszuwachsen." Seine Versuchspflanzen verunglückten jedoch durch einen Zufall ungefähr 2 Monate nach der Infektion. Die Blätter behielten während dieser Zeit ihr normales Aussehen bei. De Bary stellt die Vermutung auf, das Mycel durchwuchere von den besäten Blättern aus die ganze Pflanze bis ins Rhizom hinunter, um dann im folgenden oder erst in einem späteren Jahre auf die bekannte Art zu fruktifizieren.

So einfach und plausibel die Entwickelungsgeschichte unseres Pilzes hiernach erscheint, lassen sich doch Einwände gegen diese Auffassung erheben. Erstens kommt bei den Uredineen ein Rückwärtswachsen des Mycels sehr selten vor. Von Klebahn (1) ist ein solches für Cronatium Ribicola auf Pinus strobus nachgewiesen worden. Andere Fälle sind mir nicht bekannt. Zweitens fand ich bei der anatomischen Untersuchung in den vorjährigen Blättern der erkrankten Pflanzen gar keine Hyphen vor. Es ist nun kaum anzunehmen, daß in denjenigen Organen, die infiziert wurden, und von denen aus sich das Mycel in den Stengel und das Rhizom verbreiten soll, jede Spur von Hyphen oder deren Wirkungen verschwunden sein kann. De Bary (1) weist allerdings hin auf Analoga bei anderen Uredineen und sonstigen Schmarotzerpflanzen. Da jedoch deren vollständiger Entwickelungsgang, d. h. der Ort der Infektion damals und teilweise noch heute nicht sicher bekannt ist, wird seine Annahme dadurch nicht stichhaltiger.

In einer vorläufigen Mitteilung[1]) führe ich sub III das Resultat eigener Beobachtungen an, das deutlich für den 3. Fall spricht, wonach die Keimschläuche der Basidiosporen in die Rhizomknospen eindringen. Am 26. Mai 1905 leitete ich folgenden Versuch ein: Ich

1) Müller, W., Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum. (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 210.)

legte mit reifen „Aecidien“ reichlich besetzte Blätter sorgfältig über den Vegetationspunkt aller Sprosse von 3 gesunden Euphorbia Amygdaloides, so daß die Sporen auf diesen oder jedenfalls auf die ihn umgebenden Blättchen fallen mußten. Vielfach wiederholte Kontrollen während des ganzen Sommers ließen kein Anzeichen einer gelungenen Infektion erkennen.

Die 3 Versuchspflanzen wurden mit vielen anderen gleicher Species zusammen in einer Couche, mit dürrem Laub bedeckt, überwintert. Am 30. März 1906 abgedeckt, sahen sie noch ganz gesund aus und wurden zu weiterer Beobachtung in ein Kalthaus gestellt. Am 18. April fand ich an dem einzigen jungen diesjährigen Sproß von Topf No. 2, der, was für unsere Frage von Wichtigkeit ist, im letzten Jahre als Rhizomknospe vorhanden war und jetzt ca. 5 cm maß, an mehreren Blättchen beidseitig dichtstehende, orangefarbene, lichtbrechende Pünktchen vor, die sich als Pykniden erwiesen. — Einen Tag später konnte ich solche auch an einem jungen Triebe der Versuchspflanze No. 3 auf 3 Blättchen konstatieren. Topf No. 1 wies dagegen nichts auf. — Eine Kontrolle vom 21. April ergab einen bedeutenden Fortschritt der Pyknidenbildung. Von No. 2 waren alle 6 ausgebildeten Blättchen und auch die noch in der Knospenlage befindlichen mit Pykniden besetzt und der junge Sproß von No. 3 zeigte jetzt an 2 Blättern zahlreiche, an 3 weiteren vereinzelte Pykniden, die 3 übrigen waren noch pilzfrei.

Am 30. April waren alle Blätter des besagten Sprosses von Versuchspflanze No. 2 beiderseits stark befallen und verkrümmt, während No. 3 keinen Fortschritt zeigte. Hier waren im Gegensatz dazu die inneren, noch zusammengerollten Blätter ganz ohne Pykniden. — Jetzt stand der Pilz auf dem Höhepunkte der Pyknidenentwickelung, denn am 7. Mai nahm ich an No. 3 eine auffällige Rückbildung wahr, die dann auch bei No. 2 eintrat. Die vorher gelben, lichtbrechenden Pünktchen verschwanden, und es blieb ein schmutziger, grauweißer Beleg auf den Blättern zurück. Der kranke Trieb von No. 2 konnte sich nicht mehr erholen, sondern starb bis zum 6. Juni allmählich ab. Ueberhaupt wiesen die 2 pilzbefallenen jungen Sprosse der Versuchspflanzen No. 2 und 3 in ihrer Entwickelung ziemlich große Verschiedenheiten auf. Ersterer war viel stärker befallen als der von No. 3 und blieb im Wachstum bald zurück. Seine Blättchen waren verkrümmt, etliche fast runzelig und von grünlich-gelber Farbe. Der andere dagegen, in dem das Pilzmycel nicht die Oberhand gewann, wuchs sehr rasch, die Blätter waren fast wie normale und von gesundem Dunkelgrün. Er entwickelte sich gut; am 25. Juni waren daran immer noch Spuren von rückgebildeten Pykniden sichtbar. Am 1. Oktober sah ich auch hiervon nichts mehr.

Sehr bemerkenswert ist für uns der Umstand, daß die vorjährigen, direkt infizierten Sprosse normal auswuchsen, die einen zu blütentragenden Gipfeltrieben, die anderen bloß neue Blätter bildend. Sie ließen keine Spur des Pilzes an oder in sich erkennen.

Versuchspflanze 1 blieb während des ganzen Sommers gesund. Es waren hier zwar ebenfalls 2 Rhizomknospen ausgewachsen, die sich jedoch ganz normal entwickelten.

Da der Pilz auch in diesem Jahre seine Hauptsporenform noch nicht zur Ausbildung brachte, überwinterte ich die mycelführende Pflanze (No. 3) nochmals. Am 18. April 1907 wurde sie von Herrn Prof. Ed. Fischer einer Kontrolle unterworfen und zeigte an einem im letzten Sommer oder Herbst entstandenen Sproß reichliche Pyknidenbildung. Einige Tage

später stellte ich fest, daß der befallene Sproß nicht der nämliche war, der im vorigen Jahre Pykniden getragen hatte. Dieser — er war mit einer Marke bezeichnet worden — war abgestorben, wahrscheinlich erfroren. Der jetzt erkrankte Trieb muß also zu einem Sproß gehören, der im letzten Jahre zwar Mycel, aber keine Pykniden zeigte. Er war in seinem oberen (diesjährigen) Teile ziemlich gestreckt und trug an sämtlichen (ca. 20) gelblichen Blättchen zahllose Pykniden, die einen intensiven süßlichen Geruch verbreiteten.

Bis zum 28. Mai bildeten sich die Pykniden gänzlich zurück und der Sproß war typisch deformiert: die Blätter kurz, breit und fleischig.

Ich erwartete nun mit Sicherheit ein baldiges Auftreten von „Aecidien", was aber unterblieb, da ein Blättchen nach dem anderen vertrocknete und abfiel und auch der Stengel in Mitleidenschaft gezogen wurde. Der Sproß ist dem Pilze zum Opfer gefallen.

Ich glaube, diese Beobachtungen genügen, um den Entwickelungsgang des Endophyllum Euphorbiae der Hauptsache nach klarzulegen.

Das Resultat meines Versuches spricht deutlich dafür, daß die Infektion durch die Basidiosporen nicht an den jungen Blättern vor sich geht, sondern daß deren Keimschläuche in die Rhizomknospen eindringen, dort zu einem Mycel auswachsen, welches überwintert. Es wächst dann mit der sich zum Sproß streckenden Knospe empor und bildet ungefähr ein Jahr nach der Infektion Pykniden oder auch nicht. Bei dieser Fruktifikation hat es in den meisten Fällen sein Bewenden. Die Pykniden werden zurückgebildet; es folgen ihnen [seltene Ausnahmen vorbehalten [1]] keine Aecidien, und die Wirtspflanze nimmt wieder normales Aussehen an und läßt äußerlich nichts von der Anwesenheit des Pilzes erkennen.

Im folgenden Frühjahre wachsen aus den pilzbehafteten Sprossen die deformierten Gipfeltriebe aus, an deren kurzen, fleischigen Blättern meist nach vorangegangener Pyknidenbildung die „Aecidien" entstehen.

Da ich in den vorjährigen Blättern deformierter Sprosse keine Hyphen finden konnte, bin ich fest überzeugt, daß der Pilz in vielen Fällen nicht einmal zur Pyknidenbildung kommt, weil er dem raschen Wachstum der Pflanze nicht kräftig genug zu folgen vermag und daher nicht Zeit hat, die jungen Blätter zu befallen.

Das Mycel wird also im zweiten Sommer hauptsächlich darauf ausgehen, sich zu kräftigen, um dann im nächsten Frühjahre in den neu entstehenden Gipfeltrieb zu wachsen und diesen zum Zwecke der Fruktifikation gänzlich umzugestalten.

Die Vermutung einer allfälligen Infektion der Rhizomknospen hatte ich schon vor meinem Versuche gehegt, nur schien mir damals der Umstand dagegen zu sprechen, daß die Sporen nicht wohl zu den verhältnismäßig tief in der Erde befindlichen Rhizomen gelangen könnten. Allein dem ist entgegenzuhalten, daß für das Aecidium auf Euph. Cyparissias, dem Uromyces Piri angehörig, diese Art des Entwickelungsganges durch die Untersuchungen E. Jordy's (1) ebenfalls nachgewiesen worden ist. Die Verhältnisse liegen in diesem Falle zwar etwas anders, da das Rhizom nur wenig unter der Erdoberfläche sich befindet, und seine Knospen bedeutend größer sind als diejenigen von

1) Ich fand im Freien neben Aecidien tragenden deformierten Sprossen teils an der gleichen, teils an verschiedenen Pflanzen diesjährige Triebe mit Pykniden, einmal auch mit spärlichen „Aecidien", die aber keine Deformation bedingten.

E. Amygdaloides und ferner handelt es sich um einen ganz anderen (heteröcischen) Pilz, der allerdings eine ähnliche Deformation hervorbringt.

Die Hyphen des Endophyllum Euphorbiae machen also nicht den langen Weg von den Blättern durch den Stengel hinab ins Rhizom, um dort zu überwintern, sondern sie dringen direkt in dieses ein und wachsen mit den Sprossen empor. Wäre de Barys Ansicht richtig, so müßte doch unbedingt an den Sprossen, resp. den Blättern, in welche die Keimschläuche der Basidiosporen eindrangen, früher oder später irgendwelche Anzeichen des Parasiten auftreten. Es stände dem Wirt ferner nichts im Wege, im nächsten Jahre den neu entstehenden Gipfeltrieb zu befallen, wodurch die Fruktifikation eventuell ein Jahr früher erfolgen könnte. Es ist aber weder das eine noch das andere wahrzunehmen. Vielmehr entwickelten sich alle Sprosse, auf welche die „Aecidien" direkt aufgelegt wurden, durchaus normal und kamen großenteils zur Blütenbildung. Im Gegensatz dazu konnten wir ein Jahr nach der Infektion an 2 jungen Sprossen, die damals bloß als Knospen vorhanden waren, einen deutlich sichtbaren Erfolg konstatieren.

Unsere Auffassung des Entwickelungsganges wird indirekt gestützt, diejenige von de Bary eher unwahrscheinlich gemacht durch die biologischen Verhältnisse, wie sie für Puccinia Arrhenateri (Kleb.) Eriks. durch P. Magnus (1) festgestellt wurden. Hier infizieren die Basidiosporen direkt die jungen Blattrosetten der Berberitze[1]): „Die Infektion derselben führt zur Bildung von Pykniden und vereinzelten Aecidien auf den Blättern und vor allem zur Bildung eines perennierenden Mycels in der Sproßachse. Aus dieser infizierten Sproßachse geht ein Hexenbesen hervor, dessen Blattrosetten schon im ersten Jahre nach der Infektion sämtlich oder teilweise aus äcidientragenden Blättern bestehen."

Resumé: Die Entwickelungszeit des Endophyllum Euphorbiae silvaticae dauert 2 volle Jahre. Durch Infektion der Rhizomknospen gelangt der Pilz in neue Wirtspflanzen, überwintert dort, wächst mit der sich streckenden Knospe empor und bildet, falls er kräftig genug ist, im April und Mai Pykniden (denen bisweilen einige Aecidien folgen können), welche sich bald zurückbilden, ohne Spuren ihrer einstigen Anwesenheit zu hinterlassen. Nach der zweiten Ueberwinterung des Mycels im Stengel beeinflußt es im zweiten Frühjahre die Meristeme derart, daß eine typische Deformation entsteht und bildet im April und Mai blattoberseits Pykniden, denen dann die sofort keimfähigen Teleutosporen folgen, die in äcidienartigen Becherchen auf der Unterseite des Blattes entstehen.

II. Die anatomischen Veränderungen.

Die oben mehrfach beschriebene, durch das Endophyllum Euph. silvaticae bewirkte starke morphologische Veränderung der Gipfeltriebe zweijähriger pilzbehafteter Sprosse werden wir auf eine ebenso intensive Umgestaltung des anatomischen Baues zurückzuführen geneigt sein. Eine solche ist aber, wenigstens im Stengel, nicht in dem Maße zu finden, wie sich erwarten ließe, was wir aus einem Vergleiche

1) Fischer, Ed., l. c. p. 346.

von Schnitten entsprechender Teile von kranken und gesunden Pflanzen ersehen werden.

a) Die gesunde Pflanze. Auf Querschnitten durch den diesjährigen gesunden Sproß findet man ein stark entwickeltes, großzelliges, kompaktes Mark mit wenig kleinen Intercellularräumen. Der Holzkörper besteht aus einem Ring von vielen einzelnen Bündeln[1]), die durch Markstrahlen voneinander getrennt sind, in den unteren älteren Teilen des Stengels breiter werden und schließlich in dessen basalen Partieen verschmelzen. Der Siebteil ist nicht deutlich abgegrenzt; er umschließt in zusammenhängender Schicht den Holzkörper. Die Rinde hat eine beträchtliche Dicke; ihre Zellen sind kleiner als die des Marks. Die inneren Rindenschichten sowie der Siebteil enthalten viele sekretführende Zellen (wohl Milchröhren). — Dieser Trieb trägt bekanntlich nur Blätter; diese sind länglich, zart, fein behaart und von hellgrüner Farbe.

Nach Verlauf eines Jahres hat der nun „vorjährige" Sproß bedeutend an Größe und Dicke zugenommen. In seinem unteren Teile finden wir einen Holzkörper von großer Mächtigkeit, während das Mark auf einen kleinen Zentralraum beschränkt ist. — Nach oben zu nimmt die Stärke des Holzkörpers ab, die des Markes zu. Ersterer gliedert sich mehr und mehr in einzelne Teile, die sich nach innen auskeilen, außen aber verbunden bleiben. Daran legt sich ein geschlossener Ring von Cambium und Bastzellen. Das Mark, das in den alten Stengelteilen eine kompakte Masse darstellte, zeigt in jüngeren Schnitten einzelne Risse. Es findet von unten nach oben eine allmähliche Zerklüftung und Desorganisation desselben statt.

Untersuchen wir das im zweiten Jahre entstandene Stengelstück desselben Sprosses, so finden wir, falls es steril ist, daß die Differenzierung der einzelnen Holzkörperteile eine noch ausgeprägtere geworden ist. Das eigentliche Holz bildet scheinbar keinen zusammenhängenden Ring mehr; bei starker Vergrößerung ist aber ein schmaler verbindender Streifen von Holzelementen sichtbar. Das Mark ist sehr stark zerrissen und liegt bloß noch in dünner Schicht dem Holzkörper an. Der Siebteil ist so schwach differenziert, daß eine Unterscheidung von den benachbarten Rindenzellen mit schwacher Vergrößerung kaum mehr möglich ist. In Detailbildern (Obj. 7) ist besonders die breite Cambiumzone auffallend. Die Rinde ist ziemlich stark entwickelt und zeigt in ihrem äußeren Teile deutliche Kollenchymbildung.

Vielfach ist dieser Gipfeltrieb jedoch fertil, d. h. er schließt mit einem Blütenstande ab. Die Querschnitte durch deren Achse weisen ebenfalls ein zerklüftetes Mark und zahlreiche Holzstränge auf (zwischen größeren sind kleinere eingekeilt). Hier ist der Siebteil wieder deutlicher ausgebildet, jedoch nicht als gleichmäßige Zone, sondern der Lage der Holzzellstränge entsprechend.

Der Blütenstiel endlich zeigt ein zusammenhängendes großzelliges Mark, eine beschränkte Zahl von Holzsträngen, einen wohldifferenzierten Siebteil und eine dicke Rinde.

Die gesunden vor- und diesjährigen Blätter besitzen den normalen Bau. In ihrer Ausbildung stimmen sie ziemlich überein mit Ausnahme der Palissadenzellen, die bei den überwinterten Blättern länger sind als in den jungen. Die Blattdicke schwankt um 150 μ (Durchmesser beim Mittelnerv 190 μ).

1) d. h. Xylemgruppen.

b) Die kranke Pflanze. Beim Studium der kranken Pflanze untersuchte ich die Schnitte der verschiedenen Teile zunächst auf das Vorhandensein von Hyphen und konnte solche im ganzen Stengel bis dicht unter den Vegetationspunkt in Quer- und Längsschnitten mit Sicherheit feststellen. Mit dem Immersionsobjektiv betrachtet, fand ich ziemlich zahlreiche septierte Pilzfäden, die in den Intercellularräumen verlaufen und da und dort Haustorien in die Zellen der Wirtspflanze treiben. An ihren deutlich lichtbrechenden Wandungen sind sie leicht von geschrumpftem Plasma zu unterscheiden. Sie finden sich hauptsächlich im Mark, doch kommen sie auch in der Rinde vor, dort jedoch in geringerer Zahl. Vom Mark aus wächst das Mycel wahrscheinlich, wie dies von P. Magnus (1) für die Puccinia Arrhenateri resp. das Aecidium graveolens festgestellt wurde, in die Markstrahlen und von dort den abzweigenden Gefäßbündeln nach in die Blätter.

De Bary wies auch im Rhizom Hyphen nach, was mir bis jetzt nicht mit Sicherheit gelang.

Schnitte durch den vorjährigen Stengelteil zeigen uns Bilder mit stark zerklüftetem Mark, einem tiefausgezackten Holzkörper und einen wenig deutlichen Siebteil. In der Nähe der untersten vorjährigen Blätter schließt sich das Mark wieder. Der Holzring ist dort schmäler, hat aber seine zackige Natur beibehalten, an mehreren Stellen ist er fast bis zum Cambium eingeschnitten.

Im diesjährigen, äußerlich so auffallend abnormen Teil fanden wir ein zusammenhängendes, unregelmäßig-zelliges Mark mit Intercellularräumen. Der im alten Sproßstück festgeschlossene Holzkörperring hängt hier teils nur noch lose zusammen und zerfällt in ca. 25 Teile. Der Siebteil ist hier sehr deutlich ausgeprägt; auch er hat sich, dem Holzkörper entsprechend, in einzelne Teile geteilt und führt viele Milchröhren. — Das gut sichtbare Cambium ist nur schwach ausgebildet. — Je höher hinauf wir im deformierten Sproß gelangen, um so deutlicher tritt die Sonderung der Gewebe auf. Das Mark wird schließlich zum größten Teile desorganisiert und an Stelle von in sich geschlossenen Zonen von Holzteil, Cambium und Siebteil treten völlig getrennte kleine Gefäßbündel auf, zwischen denen Markzellen eingelagert sind.

Die vorjährigen Blätter der erkrankten Sprosse stimmen in ihrem Bau vollständig mit den gleichaltrigen der nicht infizierten Pflanze überein, zeigen also keine Anomalie. Eine genaue Untersuchung läßt darin keine Spur von Hyphen erkennen.

Die diesjährigen äcidientragenden Blätter sind abnorm kurz, dafür breit und fleischig. Ihre Dicke schwankt zwischen 350—550 μ. Sie sind sehr stark von Hyphen durchwuchert, welche vielfach die Zellen so desorganisieren, daß eine Unterscheidung von Palissadengewebe und Schwammparenchym kaum möglich ist. Auffallend ist auch die kolossale Größe der Blattgewebezellen. — Zwischen Epidermis und den teilweise zerstörten Palissadenzellen ist bisweilen eine Schicht von rundlichen Zellen eingeschoben. Die Dicke der Epidermismembran sowie der Durchmesser der -zellen ist nicht konstant. Diese Blätter sind hellgrün (fast gelb) gefärbt, was jedenfalls auch auf den Pilz zurückzuführen ist.

Aus einem Vergleich der gesunden und kranken Pflanze in entsprechenden Schnitten gehen die Wirkungen des Endophyllum Euphorbiae auf die Gewebe seines Wirtes hervor:

In den älteren vorjährigen Teilen ist, trotz des Vorhandenseins von Hyphen im infizierten Sproß, kein Unterschied von Bedeutung zu kon-

statieren. Der Holzkörper ist durch den ganzen kranken Stengel hindurch verhältnismäßig schwächer und zackiger als im gesunden, was aus einer Reihe von Messungen von ungefähr entsprechenden Schnitten ersichtlich ist.

Kranker Sproß	k_1	k_2	k_3	k_4	g_1	g_2	g_3	g_4	gesunder Sproß
Von unten nach oben:	$\frac{1}{3,9}$ [1]	$\frac{1}{12}$	$\frac{1}{33}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{15}$	$\frac{1}{19}$	$\frac{1}{25}$	

In der Nähe der untersten vorjährigen Blätter des kranken Stengels beobachten wir eine deutlichere Ausbildung des Siebteils, der zudem schon das Bestreben zeigt, sich in einzelne Gruppen zu teilen.

Viel ausgeprägter werden die Unterschiede in den im 2. Frühling entstehenden Trieben. Für die Pilzbefallenen ist charakteristisch, daß der Holzkörper in viele nur lose oder gar nicht zusammenhängende Teile zerfällt, während wir in den entsprechenden Stellen der gesunden Pflanze eine viel geringere Zerklüftung wahrnehmen. Zudem ist bei diesen der Siebteil viel deutlicher ausgeprägt und führt viel mehr Milchröhren. Detailbilder zeigen uns das Gesagte klar: Im kranken Stengel kleine Bündel mit schmaler Cambiumzone und ziemlich scharf abgegrenztem Siebteil mit den Sekretzellen, im gesunden breite, lappenförmige Holzteile, ein fast doppelt so breites Cambium und wenig differenzierten Bastelementen, die zudem etwas dünnwandiger sind und nur wenig Milchröhren enthalten.

In Schnitten, die ca. 1 cm unter dem Vegetationspunkt des einjährigen pilzfreien und des äcidientragenden (also im 2. Jahre entstandenen Sprosses geführt wurden, können wir eine ziemlich große Uebereinstimmung finden, d. h. die durch den Pilz hervorgerufenen Umgestaltungen der Gewebe erzeugen Verhältnisse, wie sie in gesunden Jugendstadien der betreffenden Pflanze vorhanden sind. Dieser Befund stimmt überein mit einem Hauptergebnis einer Untersuchung Wakkers (1), wonach der Pilz Formen erzeugt, die dem Jugendstadium sehr nahe stehen.

Des ferneren scheint das Endophyllum Euphorbiae die Desorganisation des Markes zu verzögern, denn an Stellen, wo dasselbe im gesunden Stengel dem Holzkörper nur noch in ganz dünner Schicht aufliegt, ist es im kranken am entsprechenden Ort noch vollständig erhalten oder zeigt nur wenige kleine Risse.

Während bei den Stengeln der gesunden Pflanze die Dicke von unten nach oben allmählich abnimmt, finden wir bei den infizierten Sprossen den Ort größter Dicke nicht unten, sondern bei den größten, äcidientragenden Blättern. Der Pilz hat nämlich in den befallenen Teilen eine Vergrößerung der Zellen hervorgerufen.

Durchmesser der Schnitte von der Stengelbasis bis zur -spitze	Gesunde Pflanze	344	220	170	155	150	Teile
	Kranke „	135	145	165	150	140	„

Aus diesen Zahlen ist zugleich ersichtlich, daß der Pilz allgemein hemmend auf das Wachstum der Pflanze einwirkt.

Was nun die Blätter anbetrifft, so unterscheiden sich also die vorjährigen der befallenen Stengel nicht von denen gesunder. Anders ist es dafür mit denjenigen, welche die Fruktifikationsorgane des Pilzes tragen, denn diese sind 2—3mal so dick als die mit ihnen korrespondierenden Deckblätter und besitzen eine gelblich-grüne Farbe.

---

1) Der Bruch stellt die Verhältniszahl zum Durchmesser des Schnittes dar.

Aecidientragende Blätter	Gesunde Blätter
350 μ	146 μ
394 μ	189 μ
438 μ	
550 μ	

Der größere Durchmesser beruht nicht etwa darauf, daß die kranken Zellen mehr Zelllagen besitzen. Der Pilz bewirkt vielmehr eine Vergrößerung der Zellen, jedoch nicht auf Kosten der Intercellularräume.

Vergleichende Messungen bei gesunden und kranken Pflanzen ergaben, daß bei den gesunden Sprossen die Durchmesser der Schnitte fast immer größer, die Rinde im allgemeinen dünner, der Siebteil unten schmäler, oben breiter, der Holzteil bedeutend größer und das Mark schwächer entwickelt ist als in den vom Pilz befallenen.

Fassen wir die Resultate des ganzen Vergleiches zusammen, so macht sich das Endophyllum Euphorbiae silvaticae in seiner Wirtspflanze in folgender Weise bemerkbar:

1) Es hemmt allgemein die Entwickelung der Pflanze.

2) Siebteil, Cambium und Holzkörper, letzterer in ganz auffallendem Maße, erfahren eine schwächere Ausbildung, während Rinde und Mark sich stärker entwickeln als in der gesunden Pflanze.

3) In den befallenen Sprossen unterbleibt die Vereinigung der ursprünglich getrennten Bündel zu einem deutlich erkennbaren Holzbastring (Jugendstadium).

4) Die befallenen Pflanzenteile nehmen durch Vergrößerung der Zellen an Dicke zu, die Blätter um das 2—3fache.

5) Die Desorganisation des Markes wird verzögert.

6) Es wird weniger Chlorophyll gebildet (oder die Bildung dieses Farbstoffes wird durch den Pilz gehemmt).

Die Gesamtheit dieser Veränderungen bringt die auffällige Deformation des Gipfeltriebes hervor, wodurch die Blütenbildung unterdrückt und dadurch die Erhaltung der Art gefährdet wird.

Literatur.

Tulasne (1), Second mémoire sur les Urédinées et les Ustilaginées. (Annales des sciences naturelles. Série 4. T. II. p. 129.)
— (2), Selecta fungorum carpologia. I. p. 140—141.
de Bary (1), Neue Untersuchungen über die Uredineen. (Monatsber. d. Kgl. preuß. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1865. p. 15 ff.)
— (2), Du développement des champignons parasites. (Annales des sciences naturelles. Série 4. T. XX. p. 93—94.)
Jordi, E., Weitere Untersuchungen über den Uromyces Pisi. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. XIII. 1904.)
Klebahn, Ueber Cronartium Ribicola auf Pinus Strobus. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905.)
Magnus, P., On Aecidium graveolens (Shuttlew). (Annales of Bot. Vol. XII. No. 46. June 1898.)
Wakker, J. H., Ueber den Einfluß parasitischer Pilze auf ihre Nährpflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIV. Heft 4.)
Müller, W., Versuche mit Uredineen auf Euphorbien und Hypericum. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 210.)

Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von R. Burri über „Eine einfache Methode zur Reinzüchtung von Bakterien unter mikroskopischer Kontrolle des Ausgangs von der einzelnen Zelle".

Von Prof. Dr. **Paul Lindner**, Berlin.

Die im Centralblatt für Bakteriologie, Abt. II. Bd. XX. No. 1/3. p. 95 von Burri gemachten Angaben über seine Tuschepunktkultur lassen darauf schließen, daß er meine seit mehr als 14 Jahren eingeführte Tröpfchenkultur nicht kennt. Bei dieser wird mittelst einer Zeichenfeder das genügend mit Wasser oder Nährflüssigkeit verdünnte Untersuchungsmaterial in kleinen Tröpfchen oder Strichen auf der Unterseite des Deckgläschens aufgetragen und letzteres mittelst Vaselin auf einem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt. „Die Tröpfchenkultur ist sehr leicht zur Reinkultur zu benützen; selbst von Bakterien lassen sich zumeist ohne Schwierigkeit Einzellkulturen herstellen" (Mikroskopische Betriebskontrolle. 4. Aufl. p. 189). In meinem „Atlas der mikroskopischen Grundlagen des Gärungsgewerbes" ist bei dem Bild „Nabilo" des Lafarschen Bacillus acidificans longissimus in der Legende ausdrücklich angeführt, daß die Vegetation aus einer Zelle stammt.

Es ist mir unerfindlich, weshalb Burri den umständlichen und doch so unsicheren Weg wählt, im dunkel gefärbten, auf Nährgelatine mittelst der Zeichenfeder aufgetupften Tuschetröpfchen das Vorhandensein einer einzelnen Zelle feststellen zu wollen. Eine solche ist doch viel einfacher im hängenden ungefärbten Tröpfchen, das auf das Deckgläschen aufgetragen wird, nachzuweisen. Der nachträglichen Zugabe von Nährflüssigkeit zu diesem Tröpfchen mittelst der Zeichenfeder auf der Unterseite des Deckgläschens steht nichts im Wege und ist es leicht, von der herangewachsenen Nachzucht dann etwas aus solchem vergrößerten Tröpfchen abzuimpfen.

Handelt es sich um bewegliche Bakterien von nicht zu geringen Dimensionen, so dürfte die Tröpfchenkultur, von Dreuw wegen der Anwendung der Zeichenfeder geradezu als „Federstrichkultur" bezeichnet, noch zur Feststellung der einzelnen Zelle ausreichen, sofern die Tröpfchen genügend klein gemacht werden.

Für sehr kleine bewegliche Bakterien würde vorzuziehen sein, auf dem Deckgläschen eine Adhäsionskultur anzulegen, diese aber sofort eintrocknen zu lassen und nun solche Stellen zu markieren, wo einzelne Zellen in weitem Abstand von anderen sich befinden. In diesem Falle kann durch Zugabe eines kleinen Wasser- oder Nährtröpfchens diese Zelle vorerst zum Wachsen gebracht werden.

Wie man die Tröpfchenkultur zum Studium der Variabilität der Organismen zweckmäßig benützt, dürfte wohl am besten die Lektüre meiner Arbeit über „Monilia variabilis, eine formenreiche und rassespaltige neue Pilzart" (Wochenschrift f. Brauerei. 1898. p. 212) zeigen.

Schließlich möchte ich Herrn Kollegen Burri noch darauf aufmerksam machen, daß Deckgläschen aus Glimmer sich tadellos von Gelatine abheben lassen, ohne die Gelatine irgendwie zu zerreißen. Von dieser vorteilhaften Eigenschaft habe ich bei meinen Untersuchungen über „Die Sarcinaorganismen der Gärungsgewerbe", 1888, mehrfach Gebrauch gemacht. In der betreffenden Veröffentlichung ist jedoch irrtümlicherweise statt Glimmerblättchen immer Gipsblättchen gedruckt worden.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Hoffmann, Conrad, Relation of soil bacteria to nitrogenous decomposition. (Twenty-third Annual Report of the Agricultural Experiment Station of the University of Wisconsin. 1906.)

Leitende Gesichtspunkte: Der Verf. hat Versuche angestellt über den Abbau einiger organischer Düngemittel vom biochemischen Standpunkt aus. Er wollte folgende Fragen lösen: 1) die Beziehungen zwischen dem Grade der Fäulnis und der Nitrifikation verschiedener organischer Substanzen untersuchen, dabei die Keimzahl der Böden feststellen, in denen diese Vorgänge verlaufen;

2) den Einfluß verschiedener Bodentypen auf die verlaufenden Umsetzungen studieren;

3) die relative Neigung verschiedener stickstoffhaltiger Substanzen zum Faulen und zur Nitrifikation feststellen.

Versuchsanordnung: Der Verf. arbeitete mit folgenden vier Böden: schwarzer Marschboden, Tonboden, sandiger Lehmboden und Sandboden. Als Düngemittel verwandte er Blutmehl, Knochenmehl, Kleie und Torf. Der Dünger wurde in einer Stärke von 0,3 g Stickstoff auf 500 g trockenen Boden gegeben. Eine bestimmte Menge von jedem der vier Böden wurde in eine Gallone (4,4 l) fassende Steinkrüge gebracht, die vorher in heißes Paraffin getaucht worden waren, um die Einwirkung der Bodensäure auf die Gefäßwände zu verhindern. Die Fortschritte der Umsetzungen bei den einzelnen Böden und Düngern wurden alle 2 Wochen untersucht. Die Probenahme zur Untersuchung erfolgte in folgender Weise: Der ganze Boden wurde auf Glanzpapier flach ausgebreitet, mit einem größeren sterilen Spaten gründlich durchgearbeitet. Dann wurden an mehreren Stellen größere Proben entnommen, diese wieder gründlich durchgemischt und aus dieser zweiten Probe eine dritte Durchschnittsprobe genommen, in welcher der Wassergehalt, Ammoniak- und Salpeterstickstoff, sowie die Keimzahl bestimmt wurde. Ammoniak- und Salpeterstickstoff wurden gemäß den Angaben in Bulletin No. 31 of the United States Bureau of Soils vorgenommen, der gesamte Stickstoff wurde gemäß den Angaben in Bulletin No. 46, Division of Chemistry, United States Department of Agricultury, durchgeführt. Alle Resultate, chemische und bakteriologische, wurden gemäß den Wassergehaltsbestimmungen auf Trockensubstanz umgerechnet. Zur Bestimmung der Keimzahl wählte der Forscher nach Prüfung der Hiltnerschen direkten Verdünnungsmethode und des Chesterschen[1]) Zerreibungsverfahrens, die erstere, da dieselbe praktisch leichter ausführbar war, im übrigen aber mit dem Chesterschen Verfahren gleiche Werte gab. Die direkte Verdünnung wurde folgendermaßen ausgeführt: 0,5 g Boden wurden genau in eine mit 100 ccm sterilen Wasser gefüllten, 200 ccm fassende Flasche eingewogen. Nach gründlichem Schütteln wurde gemäß dem gewöhnlichen Verfahren eine weitere Verdünnung in 100 ccm sterilem Wasser gemacht. Um Platten von 100—200 Kolonieen zu erhalten, wurden Plattenkulturen in großer Anzahl gegossen, und diejenigen Platten ausgesucht, welche die passende Zahl von Kolonieen hatten. Die

1) 13 th. Ann. Rep. Del. Expt. Stat. 1901.

Kulturen wurden 8 Tage bei 18—20° C gehalten. Die Resultate ergaben bei sorgfältigem Vergleich eine Maximaldifferenz von 23 Proz. Als Nährsubstrat diente Gelatine. Zuerst wurde ein Gelatinenährboden in Leitungswasser in Vergleich gesetzt mit einem Gelatinenährboden, der mit Bodenextraktlösung nach Remy hergestellt war. Der Vergleich von gewöhnlicher Gelatine von 0,5 Proz. HCl Acidität mit Bodenextraktgelatine ergab, daß die Bodenextraktgelatine viel besser brauchbar bei der Arbeit war. Zur Herstellung des Bodenextraktes wurden 10 g Boden mit 400 ccm Wasser gemischt, 30 Minuten gekocht, heiß filtriert und das Filtrat mit Alaun geklärt. Die Plattenkulturen aus Bodenextraktgelatine gaben durchweg eine höhere Keimzahl, außerdem wurde die Entwickelung der verflüssigenden Kolonieen eingeschränkt, dies letztere war nach vergleichenden Untersuchungen nicht dem Alaungehalt, sondern dem Zusatz der Bodenextraktlösung zuzuschreiben. Die Zufuhr von Alaun verzögerte das Erstarren der Gelatine, so blieb 2 Proz. Alaun enthaltende Gelatine bei 18° zähflüssig. Die Reaktion der Gelatine auf die Keimzahl wurde auch untersucht. Die Versuchsreihe ging in 11 Stufen von 1,5 Proz. HCl Acidität zu 1 Proz. NaOH Alkalinität, wie folgende Tabelle zeigt:

Reaktion:	Ton durchschnittliche Zahl der Bakterien für 0,5 g Boden	Sandiger Lehm durchschnittliche Zahl der Bakterien für 0,5 g Boden
1) 1,5 Proz. Säure	790 000	1 070 000
2) 1,3 „ „	1 490 000	1 360 000
3) 1 „ „	2 553 000	2 743 000
4) 0,8 „ „	2 103 000	1 520 000
5) 0,5 „ „	1 680 000	1 520 000
6) 0,3 „ „	1 530 000	1 253 000
7) neutral	1 093 000	1 376 000
8) 0,5 Proz. Alkali	1 386 000	1 216 000
9) 0,5 „ „	1 656 000	966 000
10) 0,8 „ „	1 050 000	993 000
11) 1 „ „	1 066 000	896 000

Als beste Gelatine in Bezug auf Wachstumsstärke erwies sich Gelatine von 1 Proz. HCl Acidität.

Versuchsergebnisse: Der Verf. kommt zu folgenden Schlüssen: Zahl und Charakter der Bakterienflora in Böden wird stark beeinflußt 1) durch die Natur des zugeführten Düngers, 2) durch den Charakter des Bodens selbst, eine Feststellung, die mit dem Ergebnisse der von Schneider im Institut für Bodenlehre und Pflanzenbau der Landwirtschaftlichen Akademie Bonn durchgeführten Versuche übereinstimmt. Unter den untersuchten vier Böden ist die Zahl der Bakterien im Sand die kleinste, sie betrug im vorliegenden Falle nur etwa $^1/_5$ der im schwarzen Marschboden gefundenen Zahl; der schwarze Marschboden hatte die größte Keimzahl. Die gesamte Zahl der Bakterien, die sich in den reich gedüngten Böden entwickelt, ist sehr groß, sie beträgt pro Gramm Boden Hunderte von Millionen.

Der Abbau stickstoffhaltiger organischer Substanzen ist ganz allgemein direkt von der Zahl der anwesenden Bakterien abhängig. Der Verlauf eines solchen Abbaus ist bezeichnet durch zahlreiche Auf- und Abschwankungen, die allgemein mit einem Zuwachs oder einer Abnahme in der Bakterienzahl zusammengehen. Große Mengen von Ammoniak werden im Boden gebildet, bevor die Nitrifikation eintritt, in stark ge-

düngten Böden, wie im vorliegenden Falle, sind ansehnliche Mengen von Ammoniak unveränderlich anwesend.

Im Hinblick auf die Fäulniskraft rangieren die untersuchten Böden in folgender Reihenfolge: schwarzer Marschboden, Ton, sandiger Lehm und Sand. Die gebrauchter Dünger rangieren im Hinblick auf ihre relative Neigung zum Faulen folgendermaßen: Blutmehl, Kleie, Knochenmehl und Torf, mit anderen Worten, da wo unmittelbare Wirkungen gewünscht werden, sind Blutmehl und Kleie vorzuziehen, wo hingegen die segensreiche Tätigkeit der Dünger für mehrere Jahre gewünscht wird, sind Knochenmehl und Torf vorzuziehen.

A. Trieschmann (Bonn).

Referate.

Proskauer, B., Seligmann, E. und Croner, Fr., Beschaffenheit der in Berlin eingeführten dänischen Milch. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. 1907. Heft 2. p. 173.)

Das Institut für Infektionskrankheiten in Berlin erhielt vom Minister der geistlichen, Unterrichts- und Medizinalangelegenheiten den Auftrag, Proben dänischer Milch bakteriologisch zu untersuchen und namentlich festzustellen, ob dieselben Tuberkelbacillen enthalten, sowie sich im allgemeinen über die Zweckmäßigkeit der Verwendung dänischer Milch im Konsum der Großstadt vom hygienischen Standpunkt aus zu äußern. Dieser Aufgabe unterzogen sich Proskauer, Seligmann und Croner. Sie fanden lebende Tuberkelbacillen in der dänischen Milch nicht häufiger als in der Berliner Marktmilch. Im übrigen ergab die Untersuchung: Die dänische Milch hatte wie die Berliner Handelsmilch im Winter ein etwas höheres spezifisches Gewicht und war fettreicher als im Sommer. Die Keimmenge war im Sommer beträchtlich höher als im Winter und eine im Vergleich zu pommerscher Milch weit größere. Die Reduktionskraft war bei allen Proben sehr gesteigert. Der Frischezustand der dänischen Milch war ein mäßiger, merkliche Unterschiede zwischen Sommer- und Wintermilch waren nicht vorhanden. Der Grad der Säuerung war bis auf eine Ausnahme bei der Ankunft ebenso niedrig wie in der Berliner und pommerschen Milch. Die Gerinnungsneigung trat, mittelst Alkohol- und Kochprobe geprüft, bei der dänischen Milch in der Regel früher ein, als bei den anderen Milcharten. Unter Berücksichtigung der Transportverhältnisse steht die dänische Milch der Berliner Marktmilch nur wenig nach und muß vom hygenischen Standpunkt aus als für den Handel zulässig erklärt werden. Dagegen ist sie zur Ernährung von Säuglingen nicht geeignet. Schill (Dresden).

Henkel, Die Acidität der Milch, deren Beziehungen zur Gerinnung beim Kochen, und mit Alkohol, die Säurebestimmungsmethoden, der Verlauf der Säuerung. Teil I. (Milchwirtschaftliches Zentralblatt. 1907. Heft 8.)

Die Beobachtungen und Feststellungen des Verfassers ergeben unter anderem:

1) Die Acidität der Milch ist keine feststehende Größe. Ein „normaler“ Säuregrad ist ebensowenig vorhanden, wie es eine „normale“ Milch gibt; es kann sich immer nur um das rechnerische Durchschnittsergebnis einer Reihe von Beobachtungen handeln.

2) Die Schwankungen in der Acidität der Mischmilch der zur Verfügung stehenden Herde sind innerhalb kurzer Zeiträume verhältnismäßig sehr gering. Während eines ganzen Jahres schwankte die Acidität von 6,8—7,5°.

3) Die den einzelnen Vierteln derselben Kuh getrennt entnommene Milch kann unter Umständen auffällige Schwankungen in der Acidität zeigen, meist sind sie jedoch gering.

4) Eine ungefähre, jedoch fast nie gleichmäßige Abnahme der Acidität zumal gegen Ende der Laktation dürfte nachweisbar sein. Ein Einfluß des Rinderns scheint nicht merklich hervorzutreten, Krankheiten können je nach Heftigkeit wirken, doch nicht immer im gleichen Sinne, wie es scheint. Hochgradige Aufregung schien wirkungslos, auch die bei Futterwechsel gemachten Beobachtungen lassen keine bestimmten Schlüsse zu, wogegen besondere Anstrengung ein Sinken des Säuregrades zur Folge hatte.

5) Die Kolostrummilch zeigt durchweg sehr hohe Säuregrade (höchstbeobachtete 23,6). In den folgenden Gemelken ist rasche Abnahme des Säuregrades zu beobachten, dann bleibt er einigermaßen gleich, etwa vom 7. Tage an. Ehrenberg (Breslau).

Malenković, Basilius, Sind Zersetzungen explosiver Salpetersäureester durch Pilze möglich? (Mitteilungen über Gegenstände des Artillerie- und Geniewesens. Wien 1907. Heft 7.)

In dem bekannten Werke von O. Guttmann: „Die Industrie der Explosivstoffe", 1895, ist auf p. 360 angegeben, daß mitunter Nitrocellulose schimmelt.

Das Journal of the United States Artillery, Vol. XX, No. 2 (September—Oktober 1903) enthält eine Arbeit von A. P. Sy: „Stability tests for nitrocellulose powders", die als eine mögliche Ursache der Zersetzung von Schießbaumwolle die Lebensäußerung denitrifizierender Bakterien angibt.

Diese Angaben veranlaßten den Verf. festzustellen, ob eine Zersetzung von Nitrocellulose oder Nitroglycerin durch Pilze, inbesondere durch denitrifizierende, möglich ist.

Mit Rücksicht auf den Leserkreis mußte einleitend (Abschnitte II und III) der Begriff Denitrifikation erläutert werden und die Cellulosegärungen eine kürzere Besprechung erfahren.

Im Abschnitte IV wird festgestellt, daß, entsprechend den Anschauungen der neueren Chemie, Wasser in der Nitrocellulose suspendiert ist, stets Spuren freier Cellulose, dann (je nach der Reaktion) salpetrige Säure oder ein Nitrat enthält. Trotzdem die Komponenten für eine Zersetzung durch denitrifizierende Pilze da wären, tritt eine solche nicht ein. Aehnlich ist es bei Nitroglycerin.

Ein interessantes Verhalten zeigen Gemische von Cellulose und Nitrocellulose:

a) 9 Teile Nitrocellulose, 1 Teil Cellulose.

Die Cellulose gärt nicht; die Nitrocellulose bleibt unverändert.

b) 4 Teile Nitrocellulose, 6 Teile Cellulose.

Nur die Cellulose vergärt, die Nitrocellulose bleibt ganz unverändert.

Die Cellulosegärung ist sehr schwach und nicht vollständig.

c) 95 Teile Cellulose, 5 Teile Nitrocellulose.

Die Cellulose vergärt glatt und vollständig

Die Nitrocellulose vergärt zwar nicht, zeigt aber eine Bräunung.

Verf. gelangt zu folgenden Ergebnissen:

1) Weder Nitrocellulose noch Nitroglycerin sind an und für sich einer direkten Zersetzung durch Pilze zugänglich.

2) Nitroglycerin ist jedenfalls, Nitrocellulose wahrscheinlich ein Pilzgift.

3) Nitrocellulose, die neben in Zersetzung begriffenen organischen Stoffen lagert, wird mitzersetzt.

4) Nasse Nitrocellulose sollte niemals in Papier, pflanzliche Gewebe u. s. w. eingehüllt werden und auch nicht in unausgeschlagenen Holzkisten lagern. Autoreferat.

Schleyer, Der Anbau des Meerrettichs in der Nürnberg-Erlanger Gegend, die hauptsächlichsten Krankheiten der Meerrettichpflanze, und deren Bekämpfung. (Vierteljahrsschrift der Bayerischen Landwirtschaftsrates. 1907. Heft 1.)

Verf. gibt zunächst eine Beschreibung der Meerrettichpflanze, kennzeichnet ihre Ansprüche an Klima und Boden, sowie die Anbaufläche in der Nürnberg-Erlanger Gegend, endlich Art des Anbaues, und der Düngung, Ernte u. s. w.

Von den tierischen Feinden wird dann besonders der Blattkäfer, Phaedon Cochlearia, besprochen, von pflanzlichen die Sommerwurz, Orobanche ramosa.

Von allergrößter Wichtigkeit für den Ertrag, ja die ganze Zukunft des Meerrettichbaues in der in Betracht kommenden Gegend ist aber die Ausbreitung einer Krankheit, des sogenannten „Schwarzwerdens", als deren Anzeichen ein Durchsetztwerden des Wurzelstockes mit schwarzen Punkten anzusehen ist. Es sind die Siebgefäße, die durch diese Verfärbung charakterisiert werden, als erste die in der Gegend der Wurzelachse.

Was nun die Ursache dieser Erkrankung anbelangt, so wendet sich Verf. gegen die Möglichkeit einer bakteriellen Erkrankung, glaubt vielmehr annehmen zu sollen, daß die Pflanze gezwungen ist, aus dem sauren Boden Umwandlungsprodukte der Humussäure, und schließlich diese selbst aufzunehmen, wodurch in der Pflanze Zucker, Cellulose und Pentosane in Gummi überführt werden. Es tritt dann, ähnlich der Serehkrankheit des Zuckerrohrs auf Java, eine Störung des Saftumlaufes in der Pflanze durch diese Gummi- oder Harzausscheidung in den Siebgefäßen ein. Die sich häufig im Gefolge des Schwarzwerdens einstellende „Kernfäule" hält Verf. für eine mit der Entstehungsursache der ersten Krankheit nicht direkt zusammenhängende Wirkung saprophytischer Bakterien.

(Auch wenn man nicht die Ansicht hegt, daß des Verf. Arbeit die unmittelbaren Ursachen der besprochenen Meerrettichkrankheit klar gelegt hat, wird man doch nicht verkennen können, daß seine Versuche und Feststellungen über die bedeutende Heilwirkung von kohlensaurem Kalk neben ihrer erheblichen praktischen Bedeutung auch für die wissenschaftliche Seite der Frage recht wichtig erscheinen. Interessant wäre es, eventuelle Beziehungen des „Schwarzwerdens" des Meeretticlis zur „Ringkrankheit" der Kartoffel zu prüfen, die ebenfalls durch Kalkgehalt des

Bodens beeinflußt werden sollen und auch eine Erkrankung des Gefäßsystems darstellt.) Ehrenberg (Breslau)

Falck, Denkschrift, die Ergebnisse der bisherigen Hausschwammforschung und ihre zukünftigen Ziele betreffend. (Hausschwammforschungen. 1907. Heft 1.)

Nachdem Verf. auf die nur aus der Klasse der Basidiomyceten stammenden Holzzerstörer eingegangen, und dabei zur Aufzählung der 6 wesentlichsten Formen gekommen ist, streift er kurz die heutigen Kenntnisse über die sogenannte Trockenfäule des Holzes, als deren Urheber er in erster Linie die Lenzites-Gruppe glaubt ansehen zu sollen. Es folgt dann als Hauptteil der Denkschrift eine eingehende Zusammenstellung der bisherigen Anschauungen über Art und Wesen des Hausschwammes, woraus hervorzuheben ist, das Verf. besonders dazu rät, neben Beachtung der Disposition des Hauses für den Schwammbefall, die heute fast ausschließlich als Grundlage für Gegenmaßregeln dient, auch die möglichen Quellen, und überhaupt die Bedingungen für das Zustandekommen der Infektion zu studieren. Das Haus muß als Kranker betrachtet, und selbst zu derartigen Versuchen herangezogen werden, daneben auch das wertvolle Material vieler gerichtlichen Verhandlungen zur Ausbeutung kommen. Ehrenberg (Breslau).

Falck, Richard, Wachstumsgesetze, Wachstumsfaktoren und Temperaturwerte der holzzerstörenden Mycelien. (Hausschwammforschungen. Jena 1907. p. 53—154. Mit 6 Kurven.)

Während der Wachstumsverlauf, den ein bestimmter Pflanzenteil während seiner Entwickelung vollzieht, nach den bisherigen Erfahrungen im allgemeinen ein periodischer ist, also z. B. das Längenwachstum eines Fritillaria-Internodiums erst täglich sich (bis etwa zum 6. Tag) steigert, um dann wieder bis auf Null (etwa am 19. Tag) zu fallen — die „große Wachstumsperiode“ Sachs’ zeigt —, hat Verf. beim Studium des Längenwachstums von Pilzmycelien für diese völlig abweichende Gesetzmäßigkeiten gefunden. Das Wachstum des Vegetationskörpers erhält bei diesen Organismen sehr schnell einen bestimmten Wert, der dann konstant bleibt, solange man auch die Beobachtung fortsetzen mag; erst das Aufhören des Substrates und der übrigen äußeren Wachstumsbedingungen führt einen Stillstand der Längenwachstumstätigkeit der Mycelien herbei. Das Längenwachstum vollzieht sich als eine gleichförmige Vorwärtsbewegung der Vegetationsspitzen der wachsenden Hyphenenden. Verf. hat des weiteren eine Reihe von Gesetzen nachgewiesen, welche das Längenwachstum holzzerstörender Pilzmycelien beherrschen, und, abgesehen von dem hohen wissenschaftlichen Wert seiner Untersuchungsergebnisse, die für die Bautechnik wichtigen Pinzipien klargelegt, nach denen sich jede durch Fadenpilze verursachte Holzzerstörung in ihren räumlichen und zeitlichen Fortschritten vollzieht.

Die Arbeit beginnt mit einer Unterscheidung der holzzerstörenden Mycelien nach ihrer räumlichen Ausbreitung. Dieselben zerfallen in zwei Grundtypen:

A. Ein gleichförmiges Innenmycel mit kubischem Wachstum treffen wir an:

1) bei den Bewohnern der Holzsubstanz lebender Bäume: Trametes pini (Fr.) auf Kiefern, Polyporus pinicola (Swartz); P. fulvus (Fr.) der Tanne und Fichte, P. betulinus der Birken,

P. fomentarius (Fr.) der Buchen, P. hispidus (Fr.) der Apfelbäume und Ulmen, P. dryadeus der Eichen, P. squamosus (Huds.), P. igniarius (Fr.) auf verschiedenen Laubbäumen;

2) bei den Bewohnern der oberirdischen aufrecht gelagerten Holzsubstanz abgestorbener Stämme bezw. Stümpfe: Daedalea quercina (Pers.) der Eichen, D. gibbosa (Pers.) der Buchen, P. adustus (Fr.), P. vegetus (Fr.) an Laubhölzern;

3) bei den Bewohnern bearbeiteten Holzes, das von der Erde mehr oder weniger entfernt gelagert ist: den Vertretern der Lenzites-Gruppe und einem Teil der Vaporarius-Gruppe.

B. Ein faserförmig differenziertes Oberflächenmycel mit ausgesprochenem Flächenwachstum findet sich dagegen 1) bei allen Formen der Merulius-Gruppe, 2) bei der Coniophora-Gruppe, 3) bei einer größeren Anzahl der Form der Polyporus- und Vaporarius-Gruppe, 4) bei den holzzerstörenden Agaricineen, insbesondere dem Paxillus acheruntius (Humb.), Lentinus squamosus (Schaeff.), Hypholoma fasciculare (Huds.) u. a. Den Typus A hatte Verf. bereits früher als Standortsgruppe der Geodistomyceten bezeichnet. Sie haben in Anpassung an die Temperaturverhältnisse der von der Erdoberfläche mehr oder weniger entfernt gelagerten Substrate ein höheres Temperaturoptimum und -maximum und weiteren Temperaturumfang des Mycelwachstums. Der Typus B entspricht der zweiten biologischen Standortsgruppe der Geoproximyceten, deren niedere Temperaturwerte den auf der feuchten Erdoberfläche zu beobachtenden Temperaturen entsprechen. Ein dritter Myceltypus, bei welchem die Differenzierung der Hyphen des Myceliums in dicke Haupt- oder Stammfäden, in verhältnismäßig viel dünnere Verzweigungsfäden und in Substratfäden am schärfsten durchgeführt ist, wird als linienförmige Wachstumsart gekennzeichnet und ist vertreten durch die Gruppe der Coniophora-Pilze mit dem schnellsten Mycelwachstum.

Ein weiteres Kapitel beschreibt die Untersuchungsmethoden: die Messung des fortschreitenden Längenwachstums der Oberflächenmycelien, das Kultursubstrat, die Thermostaten, die Verwendung der Wahrscheinlichkeitslehre zur Kritik der angewandten Methoden.

Als Hauptergebnis der zahlreichen Untersuchungsreihen ergab sich bei konstanter Temperatur eine gleichförmige Wachstumsbewegung, die ihren Ausdruck in der Formel $s = c \cdot z$ findet, wo s der Längenzuwachs, z die Wachstumszeit und c die Wachstumsgeschwindigkeit ist, die für die einzelnen Pilzarten verschiedene konstante Werte besitzt. Weiter wurde festgestellt, daß bei verschiedenen Temperaturen der Längenzuwachs zwischen dem Nullpunkt und optimalen Punkt des Wachstums proportional der Temperaturerhöhung erfolgt. Die Temperaturwerte der einzelnen Arten sind dabei wieder verschieden. So betrug das Längenwachstum in Zentimetern in 10 Tagen für je 1° bei Merulius silvester konstant 0,278, für Merulius domesticus 0,33, für eine neue Merulius-Form, Merulius sclerotiorum, 0,187, Polyporus vaporarius spumarius 0,244, Verpa bohemica 0,604, etc. Der Nullpunkt der Wachstumstemperatur lag bei den holzzerstörenden Pilzmycelien in der Regel bei oder in der Nähe von 3° C, bei den untersuchten Ascomyceten (Verpa, Nectria) und Phycomyceten (Phycomyces, Mucor) genau bei 0°. Die Anzahl der Grade zwischen Nullpunkt und Optimum des Wachstums nennt Verf. den Temperatur-

anstieg, die Anzahl der Grade, innerhalb deren das optimale Wachstum stattfindet, die *optimale Temperaturzone*, die zwischen optimalem und maximalem Wachstumspunkte den *Temperaturabstieg*, und endlich die zwischen Nullpunkt und Maximaltemperatur als *Temperaturumfang*; und es gilt weiter für jedes Pilzmycel der Satz, daß die Temperaturwerte für diese verschiedenen Temperaturzonen und Kardinalpunkte des Mycelwachstums konstante sind. Zur Erkennung und Charakterisierung eines Mycels (auch bei sonst schwer unterscheidbaren Arten, wie dem echten und wilden Hausschwamm) ist schon die Unterscheidung des Temperaturumfangs und der optimalen Temperaturzone ausreichend. So beträgt z. B.

	der Temperaturumfang	die optimale Temperaturzone
für Merulius domesticus	3—26°	18—22°
„ Merulius silvester	3—34°	24—28°
„ Coniophora cerebella	3—34°	22—26°
„ Lenzites sepiaria	3(?)—38°	28—32°
„ Phycomyces nitens	0—30°	24—26°
„ Verpa bohemica	0—30°	24—26°

Bezeichnet man die Zunahme, die das Längenwachstum bei einer Temperaturerhöhung um 1° C erfährt, als den Temperaturkoeffizienten, so kann das *Temperaturgesetz des Längenwachstums* auch so formuliert werden: *Der Temperaturkoeffizient des Längenwachstums innerhalb des Temperaturanstiegs ist für jede Art unter sonst gleichen Wachstumsbedingungen eine bestimmte konstante Zahl.*

Bezeichnen wir diesen Ausdehnungskoeffizienten mit α, so ist $s = \alpha\,(t-3)\,z$ für die holzzerstörenden Mycelien (wo der Zuwachs erst bei + 3° C beginnt) und da

$$s = cz \text{ auch } c = \alpha\,(t-3) \qquad z = \frac{s}{\alpha\,(t-3)} \qquad t = \frac{s}{z\alpha} + 3 \qquad \alpha = \frac{s}{z\,(t-3)}$$

Die Konstanz dieser Verhältnisse nötigt zu dem Schluß, daß das Längenwachstum eines jeden Pilzmycels bedingt wird durch eine konstante und unveränderlich wirksame, für jeden Organismus spezifische Wachstumskraft, die — wie die weiteren Untersuchungen ergaben — auch von dem jeweiligen *Ernährungszustand* resp. der Ernährungsgröße des Mycels in weiten Grenzen unabhängig ist. Wenn man die verschiedenen *Temperaturkoeffizienten* α *durch die entsprechenden Mittelwerte des mikroskopischen Durchmessers der Hyphen dividiert*, so erhält man, wie die weiteren zahlreichen Beobachtungen ergaben, *für alle untersuchten Pilze ein und dieselbe Zahl*, die Verf. den *Volumkoeffizienten* des Wachstums nennt. Unter Zugrundelegung einer Zeiteinheit von 1 Minute, einer Temperatur von 1° C und eines cylinderförmigen Wachstumsvolumens von 1 μ Durchmesser ist diese Zahl $0{,}036 = \frac{1}{27}$. Damit ist der Beweis geliefert, daß die eigentliche Wachstumskraft, die vor Berücksichtigung des Volumens als eine für das Längenwachstum der einzelnen Pilzarten spezifische betrachtet werden mußte, für alle untersuchten Mycelien unter normalen Wachstums- und Ernährungsverhältnissen einen bestimmten Wert besitzt. Bezeichnet man das Volumen mit v, diesen konstanten Wert mit k, so ist

$$\frac{\alpha}{v} = k,\ \alpha = kv = \frac{s}{zt}$$
$$c = k \cdot v \cdot t;\ s = k \cdot v \cdot t \cdot z, \text{ u. s. w.}$$

Die ausgeführten Messungen und ihr Vergleich mit den verschiedenen Temperaturkoeffizienten α haben sodann die Annahme bestätigt, daß ein bestimmter osmotischer Druck die das Längenwachstum bedingende Kraft ist. Es konnten daher die vereinigten Mariotte-Gay-Lussac-van 't Hoffschen Druckgesetze in die obigen Gleichungen übertragen werden. Bezeichnet man den osmotischen Druck mit p, so ist danach

$$\alpha = kv = \frac{pv}{273} \qquad k = \frac{p}{273} = p.\ 0{,}00367,\ p = \frac{k}{0{,}00367} = 9{,}8$$

Unsere Konstante $k = 0{,}036$ ist also das Produkt des osmotischen Druckes p und einer Urkonstanten $\alpha, = 0{,}00367$, die gleich dem elementaren Temperaturkoeffizienten der Gase und gelösten Stoffe ist, so daß sich für alle Hyphen annähernd ein Druck von 10 Atmosphären als Wachstumskraft ergibt. Dieser Druck entspricht annähernd auch dem nach der plasmolytischen Methode ermittelten osmotischen Innendruck der meisten wachsenden Mycelien.

Die Verschiedenheiten des Längenwachstums der einzelnen Pilzmycelarten sind daher einzig und allein auf die verschiedene Größe des Wachstumsvolumens zurückzuführen und wir besitzen in der Bestimmung des Durchmessers des wachsenden Hyphencylinders das spezifische Maß für die Längenwachstumsgröße eines jeden Pilzfadens. Der Vorgang aber des Wachstums der Pilzhyphen ist auf ein rein physikalisches Geschehen zurückgeführt. Ludwig (Greiz).

Schaffnit, Tribolium ferrugineum, ein Speicherschädling im Reismehl. (Fühlings landwirtschaftliche Zeitung. 1907. Heft 14.)

Verf. schildert Vorkommen und Lebensweise des besonders im Reis und Reisabfällen eingeschleppten Tribolium ferrugineum, der übrigens neben Reis auch Mais, sowie die einheimischen Getreidefrüchte und daraus hergestellte Erzeugnisse annimmt. Zur Zeit ist der Käfer gegen Kälte sehr empfindlich, so daß beide Entwickelungsformen bei 0° absterben, doch ist allmähliche Anpassung an unsere Wärmebedingungen unter günstigen Verhältnissen immerhin wohl nicht ganz ausgeschlossen, und auch deswegen Vorsicht am Platz, weil das Tier sich in der warmen Jahreszeit allein schon recht unangenehm bemerkbar machen kann.

Ehrenberg (Breslau).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Doléuč, R., Bekämpfung des falschen Mehltaues (Plasmopara cubensis) auf Gurken. (Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. 1907. p. 727.)

Bei der Bekämpfung spielt die Kulturmethode eine wesentliche Rolle. Bei der gewöhnlichen Stufen- oder Scheibenmethode (Flachkultur)

ist es trotz allen Bespritzungen mit Kupfervitriol-Kalkbrühe nicht möglich, die Gurken vor der Vernichtung durch den falschen Mehltau zu schützen. Bei dem Anbau in sogenannten Rücken- oder Kammbeeten dagegen (Rücken- oder Kammkultur), bei welchem die Gurken so kultiviert werden, wie es ihre Natur verlangt und wie es auch im Interesse des Gemüsebaues gelegen ist, weiterhin bei der Verwendung widerstandsfähiger Sorten (z. B. der japanischen Klettergurken) und einer Anlage der Kultur, wo sie von den Sonnenstrahlen möglichst früh getroffen wird, ist es leicht möglich, die Gurken auch ohne alle Bespritzung vor den Angriffen des Pilzes zu schützen. Daß Bespritzungen die Sicherheit noch erhöhen, ist selbstverständlich. Stift (Wien).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 18. Januar 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 12|14.

Original-Mitteilungen.

Bakterienblasen (Bacteriocysten).

[Aus der Schweizerischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.]

Von **Hermann Müller-Thurgau.**

Mit 4 Tafeln.

In Obstweinen, und zwar hauptsächlich in und auf der nach der Gärung abgesetzten Hefe, finden sich nicht selten merkwürdige, von Bakterien gebildete, allseitig geschlossene Blasen, die eine gewisse Aehnlichkeit mit den Zellen höherer Pflanzen zeigen. Die Untersuchung dieser bisher unbekannt gebliebenen Gebilde, deren Ergebnisse im Nachfolgenden mitgeteilt werden sollen, ergab, daß es sich dabei um kleinere oder größere Bakterienfamilien handelt, die sich mit einer geschlossenen Membran umgeben, und so, wenn auch nur in beschränktem Maße, eine morphologisch und physiologisch höher stehende Einheit bilden.

Innerhalb fester Nährböden, z. B. in Nährgelatine, ist das Zusammenbleiben der Nachkommenschaft eines Bakterienindividuums ja selbstverständlich. Doch bestehen diese sogenannten Kolonieen nicht immer nur aus einem ungeregelten, bloß durch die umgebende Masse zusammengehaltenen Bakterienhaufen, sondern sie zeigen nicht selten eine von der Bakterienart abhängige Gestalt, und wenn diese auch andererseits von der Zusammensetzung des Nährmediums beeinflußt wird, so ergeben doch die Wuchsformen der Kolonieen für manche Arten systematisch verwertbare Merkmale, zumal bei Verwendung von Nährböden von vereinbarter, feststehender Zusammensetzung. In erster Linie ist diese Erscheinung wohl zurückzuführen auf Form und Teilungsmodus der einzelnen Bakterien. Man wird jedoch solche Bakterienfamilien oder Kolonieen kaum als höhere morphologische Einheiten auffassen wollen, fehlt doch jede Differenzierung und Arbeitsteilung zwischen den Einzelindividuen und ist das Zusammenbleiben gewissermaßen ein erzwungenes[1]). Schon eher könnte man versucht sein, an den ersten Beginn einer Organisation zu denken bei den Zooglöen, jenen Kolonieen, bei denen die Bakterien durch einen von ihnen gebildeten Schleim zu gallertartigen bis knorpeligen Massen zusammengekittet sind, also nicht etwa nur durch das Nährmedium zusammengehalten werden. Zumal in flüssigen Medien, wo sie sich frei entfalten können, nehmen die Zooglöen einiger Bakterienarten so charakteristische Wuchsformen an, daß sie nicht durch ein bloß zufälliges, ganz regelloses Aneinanderlegen von Einzelbakterien entstanden sein können. Es sei nur erinnert an die knolligen Zooglöen von Micrococcus (Ascococcus) Billrothii (Cohn) Mig., sowie an die zierlich ausgebildeten netzförmigen Zellfamilien von Lamprocystis roseo-

1) Die phantastischen, auf ungenügenden Beobachtungen beruhenden Anschauungen von Max Münden (Centralbl. für Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 398), denen zufolge die Zellen der höheren Organismen Bakterienkolonieen wären, können hier nicht berücksichtigt werden.

persicina (Kützing) Schröter[1]). Ein Beispiel, wie Bakterien erst durch Bildung bestimmt geformter Vereinigungen ein für ihre Entwickelung erforderliches Substrat erreichen, bietet die Einwanderung der Knöllchenbakterien in die Wurzeln der Leguminosen[2]). Die fadenförmige Zooglöe, der sogenannte Infektionsschlauch, dringt in das Wurzelhaar und im Innern der Wurzelrinde von Zelle zu Zelle und erleichtert so, ja ermöglicht vielleicht erst das Vordringen der Bakterien an geeignete Stellen der Wurzel. Die zuerst durch Roland Thaxter[3]) genauer beschriebenen und seither namentlich durch Erwin Bauer[4]) und Alfred Quehl[5]) eingehend studierten Myxobakterien liefern weitere Beweise, daß zahlreiche Bakterienindividuen zur Erreichung gewisser biologischer Zwecke gewissermaßen zu höheren morphologischen Einheiten sich vereinigen können. Auch die im Nachfolgenden zu schildernden eigenartigen Bakterienblasen erscheinen als selbständige, einheitliche Gebilde; doch soll auf diese Frage im weiteren Verlauf der Abhandlung zurückgekommen werden.

Herrn Dr. A. Osterwalder, Assistent der Versuchsanstalt, der mich bei der Untersuchung unterstützte, sei auch an dieser Stelle der gebührende Dank ausgesprochen.

I. Vorkommen der Bakterienblasen.

Die verschiedenartigen Obstweine eignen sich nicht in gleicher Weise für die Entstehung der Bakterienblasen. Vor allem sind es die gerbstoffhaltigen Birnweine, in oder auf deren Trub man diese Gebilde häufig findet, nur selten dagegen Apfelweine und auch hier wohl nur solche, die einen nicht zu geringen Gerbstoffgehalt aufweisen. Andererseits macht ein allzu hoher Gehalt an Säure oder Gerbstoff, der das Wachstum gewisser Milchsäurebakterien verhindert, auch das Entstehen der Bakterienblasen unmöglich, was leicht verständlich ist, weil es eben gerade jene Milchsäurebakterien sind, die im Gange ihrer Entwickelung die Blasen bilden. Unter den Traubenweinen wird man, nach den bei den Obstweinen gemachten Erfahrungen, weniger bei Weißweinen als bei den an Gerbstoff reicheren und an Säure meist ärmeren Rotweinen mit Aussicht auf Erfolg nach Bakterienblasen suchen. In solchen immerhin nicht gerade herben, sondern eher milden Rotweinen treten nach unseren Beobachtungen ziemlich häufig Milchsäurebakterien auf. Möglich, daß die vor Jahren von mir in einem Ingelheimer Rotwein aufgefundenen kugeligen Bakterienansammlungen des Bacillus pilluliformans[6]) mit Gebilden übereinstimmen, die in dieser Abhandlung als Entwicke-

1) Cohn, Ferd., Untersuchungen über Bakterien. II. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1875. Heft. 3. p. 141. Mit Tafel V u. VI.)

2) Stefan, Josef, Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 131, wo auch die frühere Literatur berücksichtigt ist.)

3) Thaxter, Roland, I. On the Myxobacteriaceae, a new order of Schizomycetes. (Botan. Gaz. Vol. XVII. 1892. p. 389. Mit 5 Tafeln.) II. Further observations on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. Vol. XXIII. 1897. p. 395. Mit 2 Tafeln.) III. Notes on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. Vol. XXXVII. 1904. p. 405.)

4) Bauer, Erwin, Myxobakterienstudien. (Archiv f. Protistenkunde. Bd. V. 1904. p. 92.)

5) Quehl, Alfred, Untersuchungen über die Myxobakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 9.)

6) III. Jahresbericht der Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil für 1892/93. p. 92. (Kochs Jahresbericht f. Gärungsorganismen. 1894. p. 58.)

lungsstadien der Bakterienblasen besprochen werden sollen. Auch in einem in Flaschen gelagerten Rotwein von Bernegg (St. Gallisches Rheintal) entdeckte ich in neuerer Zeit inmitten eines Trubs von Stäbchenbakterien kugelförmige Zooglöen, teils hautlos, teils mit einer wenn auch nicht scharf differenzierten Membran.

Ob in einem Birnwein nach der Hauptgärung Bakterienblasen auftreten oder nicht, hängt nicht etwa in erster Linie von der Birnsorte ab, da sie sich im Laufe der Jahre in den Weinen fast aller hierauf untersuchten Sorten fanden, sondern in höherem Grade vom Reifegrad, oder genauer ausgedrückt, von der chemischen Zusammensetzung der Früchte bei der Verarbeitung. Läßt man z. B. die am Zürichersee so häufig angebauten Teilersbirnen überreif werden, so vermehren sich, durch den geringen Säuregehalt und die Abwesenheit von Gerbstoff begünstigt, die Milchsäurebakterien in ausgiebigster Weise; sie finden sich dann im Trub meist in Form kurzer Stäbchen, Bakterienblasen fehlen aber. In den vergorenen Säften gut ausgereifter Teilersbirnen mit höherem Säuregehalt und etwas Gerbstoff nehmen die Milchsäurebakterien meist die Form längerer Stäbchen an, und wenn man solche Birnen mit weniger ausgereiften zusammen oder überhaupt nur mittelmäßig ausgereifte Früchte der genannten Sorte mostet, so daß die Säfte noch reicher an Säure und Gerbstoff werden, dann bilden die Milchsäurebakterien lange Stäbe bis Fäden, welche letztere nicht selten in größeren Massen durcheinandergeschlungen dem bloßen Auge sichtbare Knäuel oder Flocken bilden. In solchen Birnweinen entstehen dann häufig auch Bakterienblasen, doch ist ihre Anwesenheit bloß an das Vorkommen von Milchsäurebakterien, keineswegs an das Vorhandensein der Bakterienflocken gebunden; nicht selten findet man neben den vereinzelten Bakterien nur die einen oder anderen dieser Gebilde. Aehnlich wie mit den Säften der Teilersbirnen verhält es sich mit denen anderer säurearmer Birnen. Bakterienblasen entwickeln sich darin nur, wenn die Früchte keinen hohen Reifegrad erreichten, also bei der Verarbeitung noch ziemlich viel Gerbstoff enthielten. Anders bei den spätreifenden Birnsorten, die wie Marxenbirnen, Margler, Fischbächler, Schellerbirnen, Reinholzbirnen u. a. bei uns die besten Obstweine liefern. Da sie an und für sich säure- und gerbstoffreicher sind, so werden die aus ungenügend ausgereiften Früchten hergestellten Säfte so herb und sauer, daß die Milchsäurebakterien sich darin nicht vermehren, und dementsprechend entstehen dann auch keine Bakterienblasen. Nur wenn man annähernd oder ganz reife Birnen der letztgenannten Sorten verarbeitet, finden sich im Trube des vergorenen Weines die Bakterienblasen und daneben dann auch isolierte kürzere oder längere Bakterienstäbchen oder zu Flocken vereinigte Fäden der Milchsäurebakterien.

Noch möge hier hervorgehoben sein, daß zwar Bakterienblasen nur in Obstweinen entstehen, in denen gewisse Milchsäurebakterien vorkommen und sich vermehren können, daß aber die Anwesenheit und das Gedeihen dieser Bakterien in einem Obstwein noch nicht die Entstehung von Bakterienblasen sichert. Außer von einem gewissen Gerbstoffgehalt des Weines hängt ihre Entwickelung offenbar noch von anderen Faktoren der Zusammensetzung ab. Bei Gärversuchen in Glasgefäßen läßt sich leicht feststellen, daß Bakterienblasen sowohl im Innern der abgesetzten Hefe, des Trubs, sich bilden, als auch auf dessen Oberfläche, wo sie dann besonders gut zu beobachten sind. Nicht selten sitzen sie auch in großer Zahl an der Wandung der Gärflaschen, und in vereinzelten

Fällen konnte sogar beobachtet werden, daß ziemlich große Bakterienblasen direkt unter der Weinoberfläche entstanden, dann gewissermaßen an der Oberflächenschicht hingen, bis sie sich bei geringer Erschütterung des Gefäßes von dort ablösten und langsam zu Boden sanken. In Fässern werden wohl die Entstehungsorte dieselben sein; festgestellt haben wir Bakterienblasen allerdings bisher nur in dem aus dem Fasse entnommenen Trub, in dem sie sich dann mehr oder weniger häufig, manchmal in sehr großer Zahl vorfanden.

II. Beschaffenheit der Bakterienblasen.

Die Bakterienblasen bestehen stets aus einer Anzahl gleichartiger Bakterien und einer sie umschließenden lückenlosen Membran. Sehr unterschiedlich sind nun aber Größe und Form dieser merkwürdigen Gebilde. Von den kleinsten, die nur wenige Bakterien einschließen und kaum die Größe einer Hefezelle erreichen, finden sich alle Uebergänge bis zu Blasen von $^1/_2$—1 mm Durchmesser, die schon dem unbewaffneten Auge auffallen und Millionen von Bakterien enthalten. Ausnahmsweise erreichen auf dem Trub aufsitzende Bakterienblasen noch beträchtlichere Dimensionen. In einem im März 1900 von Herrn W. Kelhofer gütigst zur Verfügung gestellten 1899er Reinholzbirnwein in einer Literflasche war die Oberfläche des Trubs mit hunderten von großen Blasen besetzt. Die meisten waren kugelrund und besaßen einen Durchmesser von 5—8 mm, daneben fanden sich noch eine Menge kleinere Zwischenstufen zwischen jenen größeren und den kleinsten von 0,5—1 mm Durchmesser. Aber auch einige ganz große, wie Vogeleier gestaltete waren vorhanden; ihr Längsdurchmesser betrug 12—20 mm. Man vergleiche deren Abbildung in natürlicher Größe in Fig. 1 auf Tafel I. Ganz eigenartig ist der Anblick, den diese zum Teil bis heute erhalten gebliebenen Gebilde darbieten. Nur im unteren Teil, meist bedeutend weniger als $^1/_{20}$ des Innenraumes ausfüllend, liegt die ziemlich fest zusammenhängende Bakterienmasse. Der übrige Raum ist von einer wasserhellen Flüssigkeit prall ausgefüllt, so daß man durch eine Blase hindurch die hinter ihr liegenden deutlich wie durch Glas sehen kann. Dabei erscheinen die Umrisse der durch eine Blase ganz oder teilweise gedeckten dahinter befindlichen nicht verzerrt; die in den Blasen befindliche Flüssigkeit besitzt demnach ungefähr das gleiche Lichtbrechungsvermögen wie die umgebende. Dagegen wird auf der Oberfläche der absolut durchsichtigen Haut das auffallende Licht teilweise reflektiert, so daß z. B. verkleinerte Spiegelbilder der hellen Fensterflächen etc. erscheinen und die durch drehende Bewegung der Weines aufgewirbelten Blasen in ihrem Aussehen an Seifenblasen erinnern, nur mit dem Unterschiede, daß sie eben statt in der Luft in einer Flüssigkeit schweben. Bald senken sie sich zu Boden, sie sind also schwerer als der Wein und zwar gilt dies, wie Beobachtungen an zerrissenen Blasen zeigen, sowohl von der Bakterienmasse als auch von der Haut und wahrscheinlich auch vom flüssigen Blaseninhalt. Blasen von solcher Größe, wie die eben beschriebenen, wurden allerdings nur einmal beobachtet, oft jedoch und zwar in Weinen aus verschiedenen Birnsorten, solche von ein bis mehreren Millimetern Durchmesser. In Fässern mit lange Zeit auf dem Trube lagerndem Birnwein, wo bei der großen Menge abgesetzter Hefe und darüberstehender Nährflüssigkeit die Verhältnisse für mächtige Entwickelung günstiger sind als in unseren, meist nur einen halben oder ganzen Liter fassenden Ver-

suchsgefäßen, dürften voluminöse Bakterienblasen öfters vorkommen, nur werden sie hier eben nicht bemerkt und bei dem in üblicher Weise vorgenommenen Entleeren des Trubs sicher zerstört.

Die ersten Beobachtungen über die Beschaffenheit solcher Blasen machten wir an einem Marxenbirnwein vom Jahre 1898, gelegentlich eines zu anderem Zweck angestellten Versuches. Dem nicht sterilisierten Obstsafte war eine unserer Reinhefen (Steinberg 1) zugesetzt worden. Einige Monate nach Beginn des Versuches, als Wein und Trub zur Untersuchung gelangten, zeigten sich in letzterem nebst einer Masse von Milchsäurebakterien in Form von Stäbchen, Fäden und Flocken auch zahlreiche Bakterienblasen. Die größten maßen 800, die kleinsten 10 μ im Durchmesser. Teils fanden sie sich vereinzelt im Trub vor, teils in größeren oder kleineren Gruppen. Eine der letzteren ist in Fig. 6 auf Tafel I dargestellt. Manche der Blasen waren ganz, andere nur zum Teil mit Bakterien angefüllt, doch soll hiervon, sowie von der Beschaffenheit der Bakterien im folgenden Abschnitt die Rede sein. Neben den auch in diesem Obstweine vorwaltenden vollkommen kugelförmigen Blasen waren ziemlich häufig solche vorhanden, bei denen die Kugel mit einem vorstehenden „Nabel" versehen war (Fig. 3). Ueber die Entstehung dieser eigenartigen Form, die sich im Verlauf der Untersuchung in vielen anderen Mosten wiederfand, glaube ich schon hier, gestützt auf die Betrachtung mancher Gruppen zusammenhängender Blasen vorläufige Auskunft geben zu sollen. Wenn, was nicht selten vorkommt, mehrere Blasen miteinander verbunden sind, hier und da wie aus einem kleinen Filze von Bakterienfäden hervorgesproßt erscheinen, so befindet sich der Nabel stets da, wo die Blasen aneinander sitzen; er ist ihre Ansatzstelle (Fig. 7 und 8). Auch solche Blasen, die vereinzelt aus einem fest abgesetzten Trub hervorwuchsen, sitzen in diesem häufig mit einem Nabel fest (Fig. 3). Die Untersuchungsergebnisse über die Entstehung der Bakterienblasen werden über das Zustandekommen dieser Ausstülpung noch weiteren Aufschluß geben. Sind auch in den meisten Fällen die mit Ansatznabel versehenen Blasen im übrigen kugelrund (Taf. II, Fig. 41), so finden sich doch auch solche, wo der Nabel nicht deutlich abgesetzt erscheint, sondern nach der Blase hin verbreitert ist, in der Weise, daß Uebergangsstufen zur eigentlichen Eigestalt zustande kommen, wie sie z. B. Fig. 1 auf Taf. I und Fig. 43 auf Taf. II zeigen. Auch Blasen von wirklicher Eiform, sowie von ovaler oder birnförmiger Gestalt fanden sich vereinzelt vor, sowie ausnahmsweise eiförmige mit seitlich angesetztem Nabel, z. B. die größere Blase in Fig. 7 auf Taf. I. In einem Fischbächlerwein vom Herbst 1900 besaßen im Januar 1901 ein großer Teil der bis 1 mm dicken Blasen Ei- oder ovale Gestalt. In einer der letzteren betrugen z. B. die Durchmesser 561 und 475 μ, verhielten sich also wie 13 : 11, in einer anderen 403 und 302 μ (Verhältnis wie 4 : 3). Nur ausnahmsweise fanden sich Blasen, die etwa doppelt so lang als dick waren. Auf eine Abhängigkeit der Blasenform von den bei der Entstehung obwaltenden äußeren Verhältnissen weist der Umstand hin, daß öfters im gleichen Versuchsgefäß alle Blasen kugelrund, in einem anderen dagegen meist mit Nabel versehen waren. Zum Schlusse sind noch zusammengesetzte Bakterienblasen zu erwähnen, nämlich solche, bei denen mehrere Blasen so zusammen verwachsen erscheinen, daß die Innenräume miteinander in Verbindung stehen. Blasen dieser Art, wie sie die Fig. 13, 14, 15 und 16 auf Taf. I, sowie 45, 47 und 48 auf Taf. II darstellen, fanden wir zu wiederholten Malen, so z. B.

auch im Monat Februar 1901 in einem Schellerbirnweine vom vorhergegangenen Herbst in ziemlich großer Anzahl. Hier hat offenbar die Beschaffenheit der in den Blasen enthaltenen Bakterien, d. h. ihre fädige Gestalt, einen maßgebenden Einfluß auf deren Gestaltung ausgeübt.

Die Haut der Bakterienblasen ist von zarter Beschaffenheit, vollkommen durchsichtig und zeigt eine auffällige Aehnlichkeit mit einer Zellmembran. Sowohl auf der äußeren als der inneren Seite ist sie glatt und scharf abgegrenzt, auf der Innenseite nicht etwa allmälich in den Inhalt übergehend. Selbst bei Anwendung starker Zeissscher Linsensysteme, z. B. 1500-facher Vergrößerung, lassen sich keine Lücken oder auch nur Unebenheiten in der Haut der Blasen erkennen. Auch erweist sich die Substanz, aus der diese Membran besteht, durchweg gleichmäßig beschaffen. Eine Schichtung ist ebenfalls nicht zu beobachten. Bei vollkommen runden Blasen besitzt die Membran ringsum die gleiche Mächtigkeit, bei solchen mit nabelförmigem Auswuchse dagegen schien sie in einigen Fällen an dieser Stelle dünner zu sein. Die Dicke der Haut hängt ab von der Größe und dem Alter der Blasen, sowie von der chemischen Beschaffenheit des Obstweines. Große Blasen besitzen in der Regel eine dickere Haut als die im gleichen Weine befindlichen gleich alten kleineren Blasen. Andererseits sind ganz frisch gebildete Blasen dünnhäutiger als die der gleichen Kultur späterhin entnommenen, also in der Regel älteren Blasen. Die im Anfang leicht zerreißbare nur etwa 0,5 μ dicke Membran wird merklich widerstandsfähiger und erreicht schließlich bei mittelgroßen Blasen eine durchschnittliche Mächtigkeit von 1,5—2 μ. Soweit die angestellten Messungen erkennen ließen, findet eine Dickenzunahme der Membran jedoch nur während kürzerer Zeit statt. Da die direkte Feststellung dieser Zunahme an der gleichen Blase nicht durchführbar erschien, wurden einem 1900er Fischbächlerbirnwein, der im Januar 1901 eine große Zahl ziemlich gleichmäßig ausgebildeter Blasen von 0,5—1 mm Durchmesser enthielt, während des Frühjahrs und Sommers einige Mal solche entnommen und die durchschnittliche Dicke der Membran bestimmt; sie blieb während dieser Zeit unverändert, nämlich ca. 1,5 μ. Eine auffallend dünne Membran besaßen die Blasen in einem 1900er Sürlerbirnmoste auch noch im Frühjahr 1901. Selbst bei einem Blasendurchmesser von 2—300 μ war die Haut nicht ganz 1, meist nur 0,8 μ dick. Bei der geringsten Berührung platzten diese Blasen, so daß die Messung einige Schwierigkeit bot. Sonst erweisen sich die Bakterienblasen ziemlich widerstandsfähig und lassen sich z. B., ohne Schaden zu leiden, mit einem engen Glasrohr von einem Gefäß in ein anderes oder in einen Tropfen Flüssigkeit auf dem Objektträger übertragen.

Wird die Haut einer Blase von der Fläche aus betrachtet, was am besten bei entleerten Exemplaren geschieht, so erscheint sie farblos. Im optischen Querschnitt dagegen am Rande einer noch vollen Blase, wo das Licht, bevor es ins Auge gelangt, eine dickere Schicht der Haut passiert, zeigt sie bei jungen Blasen meist einen bläulichen, bei alten mehr einen gelblichen Farbenton.

Für Wasser ist die Membran sehr durchlässig. Gibt man zu dem eine Blase enthaltenden Tröpfchen Wein auf dem Objektträger etwas Glycerin, so zieht sich die Blase momentan zusammen, so daß sie bei entsprechender Beschaffenheit des Inhaltes oft kaum noch einen halb so großen Durchmesser aufweist; die Membran bildet dabei tiefe Falten. Durch Erhöhung der osmotischen Wirkung der äußeren Flüssigkeit ist

also äußerst rasch etwa 80 Proz. der inneren Flüssigkeit durch die Haut nach außen gewandert. Zur Hauptsache handelt es sich dabei selbstverständlich um Wasser; doch ist nicht ausgeschlossen, daß in den im Weine liegenden Blasen auch Alkohol vorhanden ist, der dann ebenfalls nach außen tritt. Verdünnt man nun die äußere Flüssigkeit durch Zusatz von etwas Wasser, so dehnt sich die Blasenmembran ziemlich schnell wieder aus, es findet ein osmotischer Ausgleich statt. Dabei kommt es nicht selten vor, daß die Haut sich zwar schnell, gelegentlich fast plötzlich, wieder auf das ursprüngliche Volumen ausdehnt, die Bakterienmasse dagegen noch geraume Zeit zusammengeballt bleibt und nur allmählich sich wieder zur ursprünglichen lockeren Beschaffenheit ausbreitet. Wird zu Blasen, die durch Glycerinzusatz zusammengezogen wurden, kein Wasser gegeben, so vermögen wenigstens solche mit dicker Membran und nicht zu großem Durchmesser dennoch langsam wieder die frühere Form anzunehmen; es findet offenbar ein Austausch der osmotisch wirkenden Flüssigkeiten in und außer der Blase statt, die Haut scheint also auch für Glycerin passierbar zu sein. Sie besitzt aber auch, wie dieses Verhalten beweist, eine gewisse Elastizität, die es ihr unter diesen Verhältnissen ermöglicht, die ursprüngliche Gestalt wiederzugewinnen. Auf eine damit verbundene Festigkeit weist der Umstand hin, daß man hier und da vollständig entleerte Blasen findet, die noch tadellos gerundet und vollständig faltenlos erscheinen, selbst in den Fällen, wo ein deutliches Loch zu erkennen ist. In der Regel verhalten sich allerdings verletzte Blasen anders, zumal jüngere, indem sie nach mehr oder weniger vollständiger Entleerung der Bakterien zusammenfallen und dann einen knitterig gefalteten Sack darstellen (Taf. II, Fig. 41 unten und Fig. 58).

Bestimmt man bei einer Blase, die in einem Tropfen Wein in der feuchten Kammer liegt, den Durchmesser nach verschiedener Richtung und fügt hernach dem Weine etwas Wasser zu, so läßt sich eine deutliche, wenn auch nicht beträchtliche Ausdehnung feststellen. Versucht man dann, diese durch weiteren Wasserzusatz noch zu steigern, so platzt jedoch die Blase, wobei sich meistens nur eine enge Oeffnung bildet, durch welche die Bakterien in einem feinen, nach außen sich verbreiternden Strahl ausströmen (Fig. 13). Bei einer ebenfalls aus einem Fischbächlerwein entnommenen Blase mit einem Durchmesser von 320 μ dauerte dieses Ausströmen nach Zusatz von Wasser $1^1/_2$ Minuten, bei einer weiteren nur wenig größeren 4 Minuten lang. Der in rascher Bewegung aus der engen Oeffnung entweichende Bakterienstrahl staute sich gelegentlich in der umgebenden Flüssigkeit unweit der Oeffnung, worauf dann die so entstandene dichtere Bakterienmasse wie durch einen Stoß von der nachrückenden auf die Seite getrieben wurde. Auch in diesen Fällen schrumpfte die Blase beim Entleeren nicht sofort zusammen. Ein die Bakterien verbindender Schleim oder dergl. wurde weder direkt noch vermittelst Färbung beobachtet; dagegen war in einigen Fällen doch ein gewisser Zusammenhang der ausströmenden Masse bemerkbar, indem die entstehenden Schlieren mit einer Nadel in der umgebenden Flüssigkeit hin- und herbewegt werden konnten.

Das namentlich im Anfang heftige Ausströmen des Blaseninhaltes ließ ebenfalls vermuten, daß infolge der Wasseraufnahme die Haut etwas ausgedehnt wird und dann infolge ihrer Elastizität einen Druck auf den Inhalt ausübt. Zur Aufklärung vorgenommene Messungen scheinen dies zu bestätigen; so betrug z. B. bei einer runden Blase aus Fischbächlerwein der Durchmesser 490 μ. Nach Zusatz von etwas destilliertem

Wasser zum Wein in der feuchten Kammer stieg er in einer Viertelstunde auf 504 μ. Als hierauf wieder Fischbächlermost zugesetzt worden war, schrumpfte die Blase sofort etwas zusammen, die Haut zeigte Einknickungen; die Blase dehnte sich aber im Verlauf einer weiteren Viertelstunde wieder aus, die Haut wurde glatt, der Durchmesser betrug wieder ca. 490 μ. Diesen möglichst exakt ausgeführten Messungen haftet jedoch eine gewisse Ungenauigkeit an, indem die nicht immer genau runden Blasen sich bei Zusatz von Flüssigkeit leicht etwas drehen. Immerhin habe ich doch durch öftere Wiederholung die Ueberzeugung gewonnen, daß die Haut der Bakterienblasen dehnbar und elastisch ist.

Außer Wasser und Glycerin vermögen sicher auch noch andere Stoffe die Membran der Blasen zu passieren. Nachgewiesen habe ich dies speziell noch für Anilinfarbstoffe wie Methylenblau, Bismarckbraun, Corallin, Fuchsin, Safranin, Rosolsäure und Chrysoidin, also von Farbstoffen, die auch in lebende Zellen einzudringen vermögen. Wurde der Birnwein um Blasen allmählich durch Wasserzusatz stark verdünnt und schließlich durch Wasser ersetzt und übertrug man dann einzelne Blasen in kleine Schalen mit verdünnter wässeriger Lösung der genannten Farbstoffe, so konnte man schon mit unbewaffnetem Auge eine allmähliche Färbung des Inhaltes feststellen, und zwar erschien die Blase schon nach wenigen Minuten dunkler gefärbt als die umgebende Flüssigkeit. Besonders die Bakterienmasse (die bei den verwendeten Blasen wohl meist aus abgestorbenen Bakterien bestand) vermochte den Farbstoff stark aufzuspeichern und wurde z. B. in einer schwach blauen Methylenlösung schon nach 5 Minuten tief dunkelblau. Ganz verdünnte Lösungen wurden durch die Blasen schließlich vollständig entfärbt. Auch bei den anderen erwähnten Farbstoffen ließ sich gleiches beobachten, besonders schön bei Bismarckbraun. Die Membran der Blase wurde deutlich gefärbt, noch intensiver erschien aber die Färbung der Bakterienmasse, was von deren größerer Mächtigkeit bedingt sein mag. Die neben den Bakterien in der Blase befindliche Flüssigkeit erschien beim Ausfließen nicht dunkler als die umgebende Lösung. In Eosin blieb die Haut farblos, die Bakterienmasse erschien selbst nach mehreren Tagen nur wenig gefärbt, eine Speicherung des Farbstoffes fand nicht statt. Auch Hämatoxylin färbt die Haut nicht, die Bakterienmasse nur wenig. Congorot dringt ebenfalls nur sehr langsam in die Blasen ein. Von zwei aneinander haftenden Blasen war die eine unverletzt, während aus der anderen beim Verweilen in Wasser sich die Bakterien entfernt hatten. In der Congorotlösung war nun diese leere Blase bald deutlich gefärbt, bei der unverletzten dagegen erschien der leere Teil farblos, die Bakterienmasse schwach bläulichrot. In die erstere Blase drang offenbar Farbstoff durch die kleine Oeffnung ein und färbte die Haut von innen her. In die unverletzte vermochte dagegen nur sehr wenig Farbstoff einzudringen und dieser wurde von den Bakterien gespeichert, die Haut blieb farblos.

Nicht passierbar scheint die Membran für Gerbstoff zu sein. In einem älteren Reinholzbirnwein fanden sich oben auf dem Trube freiliegende größere Blasen. Nach dem Oeffnen der Gärflaschen wurde der Wein durch den Einfluß des Luftsauerstoffes tiefschwarz, was nur bei gerbstoffhaltigen Weinen der Fall ist. Der Inhalt der Blasen blieb aber farblos. Allerdings konnte es im Innern der Blasen auch an dem zur Bildung der schwarzgefärbten Verbindung erforderlichen Eisen fehlen. Im III. Abschnitt, wo das Wachstum der Blasenhaut behandelt werden wird, soll auch von ihrer chemischen Beschaffenheit die Rede sein.

Der Inhalt der Bakterienblasen besitzt nicht immer die nämliche Beschaffenheit. Den Hauptbestandteil, wenn auch nicht immer dem Volumen, so doch der Bedeutung nach, bilden die Bakterien. Junge Blasen erscheinen von ihnen vollständig angefüllt; im auffallenden Licht zeigen sie dann eine schneeweiße Farbe und bei Betrachtung mit bloßem Auge eine von der glatten Haut bedingte glänzende Oberfläche, weshalb sie etwa wie kleine Kugeln aus weißem Lack aussehen. Im durchfallenden Licht unter dem Mikroskop sind ganz kleine Blasen farblos, solche von $^1/_{10}$ mm Durchmesser an meist schon schwach gelblichbraun, merklich größere deutlich lederbraun gefärbt. Hier ist eben die Masse der aufeinander lagernden, die Färbung bedingenden Bakterien beträchtlicher. Große Blasen sind aus dem gleichen Grunde undurchsichtig und erscheinen unter dem Mikroskop schwarz.

Bei Anfangsstadien von Blasen werden die Bakterien durch eine Art Kittsubstanz, einen Schleim, zusammengehalten, der aber offenbar bald verflüssigt wird; denn selbst bei jungen, noch vollständig gefüllten Blasen strömt nach Verletzung der Inhalt rasch aus; zwischen den Bakterien befindet sich jetzt eine klare, sich leicht ausbreitende Flüssigkeit. Solange diese Verflüssigung nicht stattgefunden hat, sind die Bakterien in einer Blase gleichmäßig verteilt, und man erhält den Eindruck, als ob sie sie vollständig ausfüllten. So verhält es sich meist bei jungen Stadien; bei kleineren Blasen scheint dieser Zustand auch häufig dauernd bleiben zu können, ja selbst bei großen Blasen ist dies unter Umständen, die noch festzustellen sind, ausnahmsweise der Fall. In derartigen, noch vollständig mit Bakterien gefüllten Blasen, zumal den jüngeren Stadien, fällt die regelmäßige Anordnung auf, so daß solche Gebilde einen reizenden Anblick gewähren. In den Fig. 4 auf Taf. I, sowie 36, 37 und 38 auf Taf. II, die ja nur einen optischen Querschnitt durch Blasen darstellen, läßt sich diese Regelmäßigkeit nicht in ihrer ganzen Schönheit erkennen, aber doch in den äußeren Bakterienschichten deutlich wahrnehmen. Vielleicht ist diese Regelmäßigkeit lediglich eine Folge der dichten Lagerung der Bakterien; wahrscheinlich hat aber die lückenlose Anordnung der äußersten Schichten auch eine Bedeutung für das Zustandekommen der Blasenmembran.

Schon in diesen scheinbar vollkommen mit Bakterienmasse ausgefüllten Blasen ist doch eine nicht unbeträchtliche Menge von Flüssigkeit vorhanden, wovon man sich durch Zusatz von etwas Glycerin zu dem die Blase einschließenden Wein leicht überzeugen kann; die dadurch verursachte Volumenabnahme ist meist eine erhebliche. Gewöhnlich nimmt aber die Flüssigkeitsmenge im Verhältnis zur Masse der Bakterien mit der Zeit noch beträchtlich zu, und diese sinken dann, wenn sie kokkenähnlich geformt sind oder aus kürzeren oder längeren Stäbchen bestehen, allmählich auf den Grund der Blase, dort eine Art Bodensatz bildend, wie in den Fig. 1, 2, 3, 11 und 12 auf Taf. I zu sehen ist. Fig. 40 auf Taf. II stellt eine große, ca. 1,2 mm dicke Blase dar, die in einem aufrecht gestellten, hohlgeschliffenen Objektträger von der Seite aus photographiert wurde, so daß ebenfalls sichtbar wird, wie die Bakterien sich unten in der Blase ansammelten. Das schließliche Verhältnis der Bakterienmasse zum Innenraum der Blase ist keineswegs konstant. Fig. 2 zeigt das Bild von ziemlich alten Blasen, die oben auf dem Trub eines bei Zimmertemperatur gelagerten Reinholzbirnmostes entstanden. Sie waren gut zur Hälfte mit Bakterien gefüllt, und es änderte sich dieses Verhältnis auch bei Monate dauerndem Zuwarten nicht. In der

photographisch aufgenommenen Blase Fig. 40 aus einem anderen Reinholzbirnwein nahm die Bakterienmasse nicht vollkommen die Hälfte des Raumes ein, und ebenso verhielt es sich in den zahlreichen anderen Blasen, die mit dieser zusammen in der gleichen Flasche sich vorfanden. Aehnlich war das Mengenverhältnis in der in Fig. 50 auf Taf. II dargestellten Blase, wo allerdings bei der Präparation die Bakterien etwas aufgewirbelt worden sind. Häufiger jedoch beträgt die zusammengesunkene Bakterienmasse bei weitem nicht die Hälfte des Blaseninhaltes, sondern z. B. nur ein Viertel, ein Sechstel oder noch weniger. Die obere Fläche der Bakterienmasse ist dann, wenigstens in fortwährend ruhig stehender Flüssigkeit, nicht etwa eine horizontale Ebene, sondern aus naheliegenden Gründen konkav nach unten gewölbt, wie die Fig. 11 u. 12 auf Taf. I erkennen lassen. Wurden die zahlreichen, $^1/_2$—1 mm messenden (wie Fig. 12 beschaffenen) Blasen auf dem Trub eines Fischbächlerweines durch sanftes Schwenken der Flasche in die Höhe gewirbelt, so gewährten diese durchsichtigen, kaum sichtbaren Gebilde mit der schneeweißen leuchtenden Sichel der Bakterienmasse, zahlreichen Monden gleichend, einen reizenden Anblick. Bald nach dem Aufwirbeln drehen sich die Blasen, bis die spezifisch schwerere Bakterienmasse nach unten gekehrt ist, und sinken dann langsam zu Boden. Hierbei bleiben in der Regel die Bakterien beisammen und nur durch wiederholtes und stärkeres Aufwirbeln des Obstweines gelingt es, sie wieder mit der Flüssigkeit innerhalb der Blasen zu vermischen.

In ein und demselben Gefäß mit Obstwein sind die Blasen nicht immer gleichmäßig mit Bakterien angefüllt. In einem Marxenbirnwein vom Herbst 1903, den man der spontanen Gärung überlassen hatte, befanden sich im April 1904 zahlreiche schön ausgebildete Blasen bis zu 1 mm Durchmesser. Bei einem Teil derselben zeigte der Inhalt die soeben beschriebene Beschaffenheit, ein anderer Teil der Blasen war dagegen von den Bakterien noch über die Hälfte angefüllt, bei manchen bis zu $^3/_4$ und $^4/_5$ des Innenraumes. Endlich fanden sich auch Blasen vor, die ganz von Bakterien gefüllt waren und in ihrer glänzend weißen Farbe wie Marmorkugeln aus dem Trub hervorleuchteten.

Auf Seite 359 wurde kurz die Entleerung einer Blase beschrieben, wie sie in Fig. 13 auf Taf. I dargestellt ist. Diese Entleerung findet oft mit großer Vehemenz statt. Wie schon erwähnt, ist die Flüssigkeit in der Blase stark osmotisch wirksam, so daß bei Zusatz von Wasser zum umgebenden Obstwein eine rasche Wasseraufnahme ins Innere erfolgt. Infolgedessen strömt, sowie die Blase platzt, ein großer Teil der Innenflüssigkeit mitsamt den Bakterien aus. Es wurde versucht, den Vorgang einer solchen Entleerung photographisch aufzunehmen. Obschon das Bild, Fig. 55 auf Taf. II, infolge der raschen Bewegung der Bakterien stellenweise getrübt ist, kann es doch eine Vorstellung von der eigenartigen Erscheinung geben. Bei dieser Entleerung verhalten sich die Blasen selbst verschieden. Die in Fig. 13 dargestellte blieb während der Bakterienausströmung prall gefüllt, die ausströmende mit den Bakterien durchsetzte Flüssigkeit wurde durch endosmotisch eindringende ersetzt. Dabei enthielt diese Blase selbst nach Stunden noch ziemlich viel Bakterien, was nicht überraschen kann, da ja zwischen der inneren und äußeren Flüssigkeit mit der Zeit ein osmotisches Gleichgewicht zustande kommen mußte. Auffälliger erschien es, daß während der Nacht die Auswanderung der Bakterien weiter stattfand und die Blase am Morgen fast vollständig bakterienfrei war, dabei aber die ovalrunde Gestalt bei-

behalten hatte. Solche ihres Bakterieninhaltes entleerte, jedoch in ihrer Form erhaltene Blasen fanden sich übrigens im Trube mancher Obstweine nicht gerade selten, obgleich hier eine plötzliche Aenderung der osmotischen Verhältnisse nicht eintreten konnte. Bei manchen Blasen ließ sich die Austrittsöffnung deutlich erkennen, bei anderen nicht; möglich, daß sich im letzteren Falle die häufig enge Oeffnung einfach durch elastisches Zusammenziehen geschlossen hat.

Daß die Blasen nach der Bakterienentleerung ihre Form beibehalten, ist aber nicht die Regel, häufiger fallen sie zusammen und die Haut findet sich dann als faltiger eingesunkener Sack im Trub. Fig. 58 auf Taf. II zeigt zwei solcher leerer Häute, an denen eine größere Zahl kleiner, noch gefüllter Blasen sitzen.

Obgleich die Morphologie der blasenbildenden Bakterien selbst im 6. Abschnitt zur Behandlung kommt, muß hier doch ihre Beschaffenheit kurz erwähnt werden, da von dieser zum Teil auch die Gestaltung der Blasen abhängt.

Niemals umschließen die Blasen neben den Bakterien etwa noch andere Organismen oder sonstige Fremdkörper. Da sie häufig mitten im Trub entstehen, könnte man ja vermuten, daß etwa Hefezellen miteingeschlossen würden; es war aber dergleichen in keinem Falle zu beobachten. Der feste Inhalt besteht stets nur aus Bakterien, und zwar sind diese unter sich jeweils gleichartig beschaffen; jede Blase enthält, wie im Abschnitt VI noch gezeigt werden wird, eine Reinkultur.

In manchen Fällen besaßen die Bakterien in sämtlichen Blasen einer Kultur die Form von Kokken oder von nahezu runden Kurzstäbchen, wie sie die Fig. 36, 37, 38 und 42 auf Taf. II zeigen. Dann kamen wieder fast oder ganz ausschließlich Blasen mit deutlichen Stäbchenbakterien vor (Fig. 7, 11, 12 und 14 auf Taf. I, sowie 44 und 55 auf Taf. II). Sehr häufig wurden aber im gleichen Gärgefäß Blasen mit verschiedenem Inhalt nebeneinander angetroffen. So fanden sich neben der auf Tafel I Fig. 12 gezeichneten und gleich beschaffenen Blasen mit langen stäbchen- bis fadenförmigen, auch einzelne mit runden kokkenförmigen Bakterien, die ebenfalls vollkommen davon angefüllt erschienen. Da der betreffende Obstwein spontan vergoren ist, das Vorkommen von verschiedenartigen Organismen daher vorauszusetzen war, muß für diesen Fall unentschieden bleiben, ob die in letzteren Blasen enthaltenen Bakterien anderer oder gleicher Art wie die stäbchenförmigen waren. Nach den weiteren Befunden unserer Versuche ist es nicht ausgeschlossen, daß wir es hier trotz der verschiedenen Form mit der gleichen Bakterienart zu tun haben. Wie im 6. Abschnitt mitgeteilt werden wird, sind zwar Milchsäurebakterien verschiedener Art befähigt, Blasen zu bilden, aber auch bei Bakterien der gleichen Art (in Reinkultur) enthalten die Blasen je nach ihrem Entwickelungsstadium einerseits und der Beschaffenheit der Nährflüssigkeit andererseits ungleich geformte Bakterien. Die in Fig. 8 auf Taf. I dargestellte Gruppe von 4 zusammenhängenden Blasen entstammt zwar nicht einer Reinkultur; allein die Entstehungsart solcher Blasengruppen, die im folgenden Abschnitt eingehender besprochen werden soll, macht es doch höchst wahrscheinlich, daß sie von einem und demselben Bakterienfaden abstammen. Dessenungeachtet zeigten die darin enthaltenen Bakterien verschiedene Beschaffenheit. In a waren sie kurz stäbchen-, fast kokkenförmig, in b etwas länger, in c deutliche lange Stäbchen; Blase d, die ebenfalls Stäbchen enthielt, hatte sich infolge einer Verletzung bei Uebertragung auf den Objektträger entleert.

Eine Folge dieses Transportes war übrigens auch die regelmäßige Anordnung der 4 Blasen, die in ihrer natürlichen Lage vom gemeinschaftlichen Anheftungspunkte nach oben strebten. Zwei Blasen gemeinschaftlicher Abstammung, aber ebenfalls mit verschiedenem Bakterieninhalt, zeigt Fig. 42 auf Taf. II. Die kleinere Blase enthält entschieden Bakterien von geringerer Größe.

In einigen Obstweinen, wie z. B. Marxenbirn-, Schellerbirn- und Teilersbirnwein, in denen nach der spontanen Gärung sonst meist Blasen von der schon beschriebenen Beschaffenheit auftraten, entstanden in mehreren Fällen Blasen mit anders gestalteten Bakterien. Statt der Kokken- oder Stäbchenform fanden sich darin lange fadenförmige Bakterien, die anfangs die Blase vollkommen ausfüllten und öfters wie zu einem Knäuel aufgewunden erschienen (Fig. 43—47 auf Taf. II). Deutlicher als in diesen Bildern waren bei manchen dieser Blasen zwei Pole zu erkennen, zwischen denen sich die Bakterien erstreckten. Sprengte man solche Blasen, sei es durch Druck oder auf osmotischem Wege durch Zusatz von Wasser, so war das Verhalten verschieden. Bei den einen bildeten die Bakterienfäden im Innern der Blasen einen dichten, so fest zusammenhaltenden Knäuel, daß selbst nach dem Sprengen der Haut ihr Zusammenhang nicht oder nur teilweise aufgehoben wurde, wie dies Fig. 49 auf Taf. II erkennen läßt, während bei anderen diese Fäden beim Austritt größtenteils in kürzere Stücke zerfielen. Bei manchen dagegen drängte sich der Inhalt durch die entstandene Oeffnung nach außen und die scharf zusammengeknickten Bakterienfäden entfalteten sich allmählich in der umgebenden Flüssigkeit zu einem lockeren Netz (Fig. 10). Blasen der letzteren Art zeigen schon vor dem Oeffnen eine andere Beschaffenheit als die vorhin erwähnten. Bei ihnen (Fig. 9 und 10) besitzt die Anordnung nicht jene Aehnlichkeit mit einem Fadenknäuel, die geknickten Fäden bilden vielmehr ein schwammartiges Gebilde, das späterhin die Blase gewöhnlich nicht mehr ganz ausfüllt und dann oft wie ein Plasmodium von einem mittleren Konglomerat aus strahlige Fortsätze nach der Wand aussendet (Fig. 9); doch handelt es sich hier um einen einfachen Wachstumsvorgang, indem die Blasenhaut bei ihrer Ausdehnung einzelne noch an ihr festhaftende Fäden von der abgerundeten Bakterienmasse wegzieht.

Auch solche Blasen mit fadenförmigen Bakterien können von den nämlichen Arten gebildet werden, wie die mit Kurzstäbchen; es hängt eben sehr von der Beschaffenheit des Obstweines ab, ob sich mehr oder weniger lange Fäden bilden, bezw. ob diese leichter und schneller in Kurzglieder zerfallen. Dieser Umstand macht sich auch schon bei der Entstehung der Blasen geltend, und so kommt es denn vor, daß Blasen mit fädigem Inhalt zu mehreren noch durch Fäden zusammengehalten werden, wie dies bei den Fig. 15 und 16 auf Taf. I, sowie 45 und 47 auf Taf. II zu sehen ist. Meistens, wenn auch nicht immer, ist der Strang der verbindenden Fäden ebenfalls nach außen mit einer Membran bekleidet und der hierdurch gebildete Kanal verbindet dann die Innenräume der zwei aneinandergrenzenden Blasen; es kommen so zusammengesetzte Blasen zustande. Oefters erhält man den Eindruck, als ob die Blasen durch eine Art Knospung, ähnlich wie Hefezellen, neue hervorbringen und so ebenfalls zusammengesetzte Blasen erzeugen könnten (Fig. 13 und 14 auf Taf. I); es mögen jedoch diese Vorkommnisse im folgenden Abschnitt besprochen werden.

III. Entstehung der Bakterienblasen.

Die zur Blasenbildung erforderliche Zeitdauer ist verschieden. In erster Linie hängt sie davon ab, ob die Beschaffenheit des Obstsaftes der Vermehrung von Milchsäurebakterien mehr oder weniger günstig ist, und sodann wohl in ebenso hohem Grade von der Temperatur des Weines. Die hier in Betracht kommenden Bakterien entwickeln sich bei Wärmegraden unter 10°, die zur Vergärung der Obstweine noch genügen, gar nicht oder nur äußerst langsam, und dementsprechend findet man selbst nach Monaten, nachdem die Gärung längst abgeschlossen ist, noch keine Bakterienblasen, während im Laufe längerer Zeit sich schließlich doch noch solche bilden, zumal wenn die vergorenen Weine nachträglich, z. B. im nachfolgenden Sommer, wärmer lagern. Unter günstigen Umständen geht die Blasenbildung dagegen ziemlich rasch vor sich. Am 20. November 1901 fanden sich z. B. schön ausgebildete Bakterienblasen mit einem Durchmesser bis zu 0,5 mm in einem Reinholzbirnenwein, der am 6. Oktober gemostet worden war, also nach 45 Tagen, ferner unter gleichen Verhältnissen in Marxenbirnwein vom 21. Oktober, demnach schon 30 Tage nach der Kelterung, und endlich in einem am 25. Oktober gekelterten Schellerbirnwein, wo sich also die Bakterienblasen schon am 26. Tage nach dem Beginn des Versuches vorfanden. Die Birnsäfte wurden hierbei nach dem Zerkleinern der Früchte sofort abgepreßt und in Gärflaschen à 1 Liter bei einer Temperatur zwischen 16 und 17° der spontanen Gärung unter Gärverschluß überlassen. Da nach unseren sonstigen Beobachtungen meist erst nach Abschluß der Hauptgärung die Blasenbildung beginnt, so erforderte diese im Schellerbirnwein, der ca. 14 Tage gärte, die verhältnismäßig kurze Zeit von 10—14 Tagen. Es kann also die Blasenbildung unter Umständen sehr rasch von statten gehen, in anderen Fällen aber auch recht langsam verlaufen.

Den Vorgang der Blasenbildung zu erforschen, bereitete ziemliche Schwierigkeiten, und zwar deshalb, weil es anfänglich nicht gelingen wollte, die betreffenden Bakterien in Reinkultur zu züchten und daselbst zur Blasenbildung zu bringen. Wohl konnten durch zahlreiche Beobachtungsreihen in spontan vergorenen Obstweinen die aufeinanderfolgenden Entwickelungsstadien von einzelnen Bakterien bis zu vollständig ausgebildeten Blasen festgestellt werden; es blieb aber manches doch unsicher, da man immer gewärtig sein mußte, verschiedene Arten von Bakterien vor sich zu haben. Erst als es schließlich gelang, die Bakterien in einer Flüssigkeit zu züchten, die zudem auch die Blasenbildung ermöglichte, und als die bis dahin in spontan vergorenen Weinen erhaltenen Untersuchungsergebnisse durch Versuche mit Reinkulturen bestätigt worden waren, konnten sie als sicher festgestellt erachtet werden.

Wie schon erwähnt, werden die Blasen durch Milchsäurebakterien gebildet, und zwar sind, wie im 6. Abschnitt noch gezeigt wird, verschiedene Arten hierzu befähigt. Stets entstehen die Blasen aus Zooglöen, und es möge daher zunächst an einigen Beispielen der Vorgang der Zooglöenbildung dargelegt werden. In einem 1902er Obstwein aus einem Gemisch von säurearmen Teilersbirnen und einigen säure-, sowie gerbstoffreicheren spätreifenden Birnsorten fanden sich bald nach Abschluß der Gärung eine Menge langer, zum Teil miteinander verflochtener Bakterienfäden. Im Januar 1903 gliederten sich diese Fäden deutlich

in kürzere Stücke, und an einem Teil derselben konnte man in der folgenden Zeit ein Zusammenneigen und teilweises Krümmen der eigenartig knotig verdickten Glieder erkennen, wie es auf Taf. I in Fig. 25 a, b und c zu sehen ist. Zu dieser Zeit waren die Fäden von einem Schleim überzogen, so daß die einzelnen Fadenglieder vielfach nur noch durch diesen zusammengehalten waren. Soweit sich feststellen ließ, stammte in diesem Obstweine jede dieser so entstandenen Zooglöen (d) von einem einzelnen Faden ab. Wegen des langsamen Verlaufes dieser Vorgänge gelang die wünschenswerte ununterbrochene Beobachtung an einem einzelnen Individuum nicht. Im April fand man sodann im Trub dieses Weines eine Menge solcher Gebilde, zum Teil noch weiter ausgebildet (Fig. 25 e). Von den hier dargestellten 3 miteinander zusammenhängenden Zooglöen besaß die mittlere schon eine deutliche Haut, war also zur Blase geworden.

Wie in dem vorhin beschriebenen Falle, geht der Blasenbildung stets die Entwickelung einer Zooglöe voraus, nur zeigen sich je nach der Art des Spaltpilzes und namentlich auch je nach der Art der Beschaffenheit des Weines in der Zooglöenbildung mancherlei Unterschiede. In einem 1899er Fischbächlerbirnwein z. B. teilten sich die anfänglich aus geraden langen Teilstücken bestehenden Bakterienfäden in kürzere Glieder und krümmten sich dabei in eigentümlicher, in Fig. 26 b dargestellter Weise. An den Knickungsstellen erschienen die Fäden knotig angeschwollen (c). Es machte den Eindruck, als würde an diesen Stellen der ganze Inhalt je eines Fadenstückes zusammengezogen. Immer mehr zog sich dann ein solcher Faden knäuelartig zusammen, und zwar wurden in diesem Falle die angeschwollenen Knoten zu einem großen Teil an die Peripherie des Knäuels geschoben, wie die größere Zooglöe bei d erkennen läßt. Das weitere Entwickelungsstadium bildeten größere und kleinere Zooglöen, bei denen ein fädiger Zusammenhang nicht mehr zu erkennen war. Aus den Knoten sind durch Teilung isodiametrische, hier und da etwas unregelmäßig geformte, brockige Bakterien entstanden, die dann namentlich in der äußersten Schicht eine regelmäßige Anordnung zeigen. Die deutlich zu erkennenden engen Räume zwischen den einzelnen Bakterien sind durch einen diese zusammenhaltenden Schleim ausgefüllt. Da dieser Schleim auch die nach außen gekehrte Seite der peripheren Bakterien überzieht, so entsteht auf diese Weise eine zusammenhängende, die Zooglöe umgebende Schleimschicht, und in dieser findet dann die Hautbildung statt. In Fig. 4 auf Taf. I ist eine kleine, aus einer solchen Zooglöe entstandene Blase abgebildet.

Dieses Zusammenziehen eines Bakterienfadens zu einer Zooglöe ist ein eigenartiger Vorgang von wissenschaftlichem Interesse. In den soeben beschriebenen Fällen kommt er dadurch zustande, daß die einzelnen Glieder des Fadens sich krümmen, zum Teil auch einfach aus der Längsrichtung rücken, so daß an der Verbindungsstelle zweier Teilstücke eine Knickung entsteht; allein durch welche Mittel diese Bewegungen zustande kommen, ob dabei auch chemotaktisch wirkende Einflüsse beteiligt sind, bleibt noch zu ergründen. Jedenfalls kann aber die Schleimhülle, infolge welcher einmal genäherte Glieder sich nicht mehr voneinander trennen, das allmähliche Zusammenballen fördern. Es bedarf weiterer Beobachtungen, um das Zustandekommen der Zooglöen aus Bakterienfäden vollständig aufzuklären, und ebenso um festzustellen, wodurch es den zur Zooglöenbildung schreitenden Bakterien ermöglicht wird, fremde Einschlüsse fernzuhalten, so daß mitten im Trub eines

Obstweines entstandene Zooglöen oder Blasen stets eine vollkommene Reinkultur eines Spaltpilzes enthalten.

Die von den Milchsäurebakterien in Obstweinen gebildeten Zooglöen sind von sehr verschiedener Größe. Zum Teil rührt dies schon daher, daß entweder nur ein kleiner Faden oder sogar nur ein Teil eines mehr oder weniger gegliederten Fadens zur Zooglöenbildung schreitet, oder aber daß ein langer Faden bezw. eine lange Kette von Gliedern sich knäuelartig zusammenzieht. Hierzu kommt dann noch ein Wachstum der Zooglöen selbst, durch Teilung der Einzelglieder, das sehr verschieden ausgiebig sein kann. Ein Beispiel, wobei ein ziemlich langer Faden in seiner Vorbereitung zur Zooglöenbildung beobachtet werden konnte, ist in Fig. 27 b gezeichnet, a zeigt einen kürzeren, im Zusammenziehen begriffenen Faden.

Daß aus einem und demselben Faden unter Umständen eine ganze Anzahl von Zooglöen hervorgehen kann, lassen die Fig. 28 a und b erkennen. Bei b ist von den nun kettenförmig angeordneten Zooglöen die unterste schon zu einer Blase geworden. Der Vorgang der Zooglöenbildung selbst spielt sich bei diesen in einem ziemlich säure- und gerbstoffreichen Obstwein aus Sürlerbirnen und Ottenbacher Schellerbirnen gewachsenen Bakterien entschieden in anderer Weise ab, als z. B. in Fig. 25 dargestellt ist. Besonders die ersten Anfangsstadien lassen dies deutlich erkennen. Eine Krümmung einzelner Fadenglieder findet nicht statt; es rücken vielmehr einzelne Glieder aus der Längsrichtung, stellen sich mehr quer, wobei sie jedoch durch Schleim mit dem übrigen Faden in Verbindung bleiben, und teilen sich dann in kürzere Stücke.

Einige Aehnlichkeit mit den letztbeschriebenen Vorgängen zeigte eine aus einem 1903er Wasserbirnwein gewonnene reingezüchtete Milchsäurebakterie, die vorläufig als f bezeichnet sei und von der im weiteren noch mehr die Rede sein wird. Von dieser Bakterie wurde in am Deckglas von feuchten Kammern hängende Tröpfchen von unvergorenem Teilersbirnsaft je ein einzelnes Fadenstück gebracht und dann bei Zimmertemperatur die weitere Entwickelung beobachtet. Die Fäden wuchsen noch kurze Zeit, aber schon nach einigen Tagen teilten sie sich in kürzere Stücke, die meist noch im Zusammenhange blieben. Am 10. Tage konnten in mehreren Präparaten die Anfänge der Zooglöenbildung beobachtet werden, wie sie in Fig. 29 a und b dargestellt sind. Hier war nun deutlich zu sehen, wie die Bakterienfäden an den betreffenden Stellen in kürzere, fast runde Glieder zerfielen, diese aber durch Schleim zusammengehalten blieben. Ferner ließ sich feststellen, daß die Zooglöen sich nachträglich vergrößern, indem die darin enthaltenen Bakterien wachsen und sich dann mehr oder weniger rasch teilen, so daß entweder lauter Kurzstäbchen, wie am Anfang, oder aber etwas längere Bakterien darin enthalten waren. Fig. 29 c stellt die aus einem solchen Faden gebildeten Bakterien und Zooglöen am 14. Tage dar, während d eine wesentlich größer gewordene Zooglöe vom 20. Tage zeigt.

Ohne weiteres verständlich ist nun die in Fig. 30 dargestellte Zooglöenbildung einer Milchsäurebakterie in einem 1900er Wasserbirnwein, a, b und c zeigen die allmähliche Gliederung der Milchsäurefäden, d das Zusammenziehen, e die Entstehung der Zooglöen. In diesem gerbstoffarmen Obstwein konnten sich diese letzteren trotz längeren Verweilens aber nicht zu Blasen entwickeln. Es wurde daher eine geringe Menge dieses Materials in sterilisierten Fischbächlerwein übertragen. 10 Tage später hatte schon ein Teil der Zooglöen eine deutliche Haut

gebildet; aus ihnen sind also in dem anders beschaffenen Medium Blasen entstanden. Fig. 30 f zeigt eine Gruppe von 5 Blasen aus diesem Wein, die obere noch im Zooglöenzustand.

Je nach der Beschaffenheit des Obstweines ist das Verhalten der fadenförmigen Milchsäurebakterien bei der Zooglöenbildung verschieden. Welche Bestandteile und wie diese einwirken, bleibt allerdings zum Teil noch zu erforschen. Nach unseren bisherigen Beobachtungen scheinen in milden, an Gerbstoff und Säure armen Obstweinen die Fäden in kurze Stücke zu zerfallen, während in sauren und herben sie sich weniger kurz gliedern. Fig. 31 zeigt die Zooglöenentwickelung in einem ziemlich säure- und gerbstoffreichen Wein von Sürlerbirnen, einer sehr spät reifenden Sorte; bei b, c und d ist das von den bisher mitgeteilten Fällen abweichende Verhalten der Bakterien deutlich zu erkennen, und bei d ist zugleich zu ersehen, wie infolge dieses festeren Zusammenhanges der Bakterien zusammengesetzte Blasen zustande kommen können. Nun liegt ja allerdings der Gedanke nahe, daß in diesem Obstweine eben eine andere Bakterienart sich einstellte und diese an und für sich, unabhängig von der Beschaffenheit des Mediums, bei der Zooglöenbildung ein anderes Verhalten zeigte; allein das nachfolgende Beispiel bringt den Beweis, daß man zu einer solchen Annahme nicht genötigt ist.

Von der reingezüchteten Bakterie f, die auch zu den bereits erwähnten Beobachtungen in hängenden Tropfen gedient hatte, wurden Reinkulturen in drei verschiedenen unvergorenen Obstsäften in Flaschen von 50 ccm angelegt. Es wurden hierzu verwendet ein 1903er Wasserbirnsaft, der etwas mehr Säure und Gerbstoff enthielt als der zur Tröpfchenkultur gebrauchte unvergorene Teilersbirnmost, aber immerhin als mild bezeichnet werden konnte, ferner ein an Gerbstoff etwas reicherer, aber doch nicht übermäßig herber 1903er Reinholzbirnmost und endlich ein noch säure- und gerbstoffreicherer Schellerbirnmost vom Jahre 1901. Sowohl Versuchsflaschen als Obstsäfte wurden sorgfältig sterilisiert, dann am 11. Februar 1904 geringe Mengen der reingezüchteten Bakterie f ausgesät und die Flaschen bei Zimmertemperatur aufgestellt. Die Bakterien entwickelten sich anfangs langsam, dann schneller; am 14. März befand sich am Boden des Wasserbirnsaftes ein beträchtlicher Satz, bestehend aus langfädigen Milchsäurebakterien und zahlreichen Zooglöen; im Reinholzbirnsaft hatten sich die Bakterien ebenfalls gut, wenn auch etwas weniger als im Wasserbirnsaft, entwickelt und es fanden sich ebenfalls lange Bakterienfäden und Zooglöen. Dagegen ist im Schellerbirnsaft jegliche Bakterienentwickelung ausgeblieben; er war offenbar zu herb. Von Interesse ist nun das ungleiche Verhalten dieser reingezüchteten Bakterie f bei der Zooglöenbildung in den erwähnten, verschieden beschaffenen Obstsäften. In dem auf Seite 367 beschriebenen Versuche zerfielen in den hängenden Tropfen von Teilersbirnsaft die Fäden in kurze, fast runde Glieder, die sich dann zu einer Zooglöe zusammenlegten (Fig. 29). Ganz anders war jedoch das Verhalten der gleichen Bakterie in den Fläschchen mit Wasserbirn- und Reinholzbirnsaft. Im Wasserbirnsaft zerfielen die Fäden nicht in runde, sondern in ziemlich lange stäbchenförmige Glieder, die sich zur Zooglöenbildung aneinanderlegten (Fig. 32 a), und bei der weiteren Entwickelung ein dichtes Geflecht von zum Teil in Fäden zusammenhängenden Stäbchen bildeten (Fig. 32 b). Noch weniger gegliedert zeigten sich die Fäden in den Zooglöen in dem an Säure und Gerbstoff reicheren Reinholzbirnsaft (Fig. 33). Die in Fig. 32 b gezeichnete Zooglöe ist deutlich in 3 Teile

abgeteilt, von denen jeder eine Blase bilden wird. Bei dem festen Zusammenhang der Bakterien wird aber eine vollständige Abschnürung und Trennung nicht zustande kommen, und es entstehen dann aus derart beschaffenen Zooglöen häufig zusammengesetzte Blasen, wie einige einfachere in Fig. 15 und 16 auf Taf. I nach Zeichnung und 47 und 48 auf Taf. II nach Photographieen dargestellt sind.

In den beschriebenen Fällen ist jede Zooglöe aus einem einzelnen Bakterienindividuum hervorgegangen. Selbst in dem in Fig. 32 a dargestellten Falle ist dies in weiterem Sinne sicher der Fall, weil die betreffende Bakterie f ja in von einer einzelnen Zelle ausgehender Reinzucht gewonnen war. Allein auch in engerem Sinne scheint die Regel hier zuzutreffen, indem die beiden parallel nebeneinander liegenden Fäden wahrscheinlich Stücke eines und desselben Fadens sind, wenigstens konnte ein Vorbeigleiten und Zusammenhaften zweier Teilstücke eines Fadens in dem gleichen Material öfters beobachtet werden. Mit diesen Darlegungen soll jedoch die Möglichkeit nicht bestritten werden, daß auch vorher getrennte Bakterien der gleichen Art sich zufällig aneinanderlegen und dann gemeinschaftlich eine Zooglöe bilden können; doch war es nicht möglich, einen solchen Fall sicher nachzuweisen. Hingegen darf wohl auf Grund der Untersuchung als ausgeschlossen betrachtet werden, daß in der Flüssigkeit vorhandene Bakterien verschiedener Art infolge ihrer Schleimschicht zufällig aneinander haften bleiben und dann zusammen eine gemeinschaftliche, aus einem Gemenge verschiedener Bakterien bestehende Zooglöe bilden.

Nur solche aus Bakterien gleicher Abstammung und zwar ohne die mechanische Mitwirkung des Nährmediums, also gewissermaßen aus inneren Ursachen entstehende Bakterienkolonieen sollten als Zooglöen bezeichnet werden, nicht aber die z. B. durch einen festen Nährboden mechanisch zusammengedrängten oder auf der Oberfläche eines flüssigen Nährbodens zufällig sich ansammelnden Bakterienmassen, bestehen diese nun aus den gleichen oder verschiedenartigen Bakterien. Ich stimme daher C. Flügge[1]) nicht bei, wenn er sagt: „Meist werden die Zooglöen zwar von gleichartigen Elementen sei es von Kokken, Bacillen oder Spirillen erzeugt, nicht selten beobachtet man aber auch mehrere Species in einer Gallerte verbunden.“ Eine solche Vereinigung verschiedenartiger Bakterien wäre nach meiner Auffassung nur eine scheinbare Zooglöe. Eine exakte Darstellung der Vorgänge beim Zustandekommen einer echten Zooglöe hat L. Klein[2]) gelegentlich der Beschreibung von Bacillus allantoides n. sp. gegeben.

Der Vorgang der Zooglöenbildung ist also, wie aus dem Bisherigen hervorgeht und an weiteren Beispielen dargetan werden könnte, durchaus nicht immer der gleiche; er ist eben sehr abhängig einmal von der Art der Bakterie und sodann auch von der Beschaffenheit des Mediums.

Die den photographischen Abbildungen zukommende größere Beweiskraft und Naturtreue gab Veranlassung, den Vorgang der Zooglöen- und Blasenbildung auch auf diesem Wege zur Darstellung zu bringen. Fig. 63 auf Taf. III zeigt eine Flocke von fadenförmigen Milchsäurebakterien aus einem Fischbächlerwein, wovon die unteren schon im Beginn der Zooglöenbildung begriffen sind. Die in Fig. 64 und 65 abgebildeten

1) Flügge, C., Die Mikroorganismen. Teil I. Leipzig 1896. p. 68.

2) Klein, Ludwig, Botanische Bakterienstudien. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. VI. 1889. p. 377.)

einzelnen Fäden lassen die der Zooglöenbildung vorausgehende Zusammenknickung u. s. w. erkennen. Man vergleiche damit z. B. Fig. 27 a auf Taf. I. Das in Fig. 66 dargestellte Stadium zeigt Aehnlichkeit mit dem in Fig. 28 a gezeichneten. In Fig. 67 erkennt man die Entstehung mehrerer Zooglöen aus ein und demselben Faden (ähnlich 28 b), während Fig. 68 solche Zooglöen aus dem gleichen Obstwein in weiter vorgeschrittenem Stadium zeigt; die Zahl der Bakterien in den Zooglöen hat zugenommen. Gleich daneben lag im Präparate noch ein Faden im Anfangsstadium. Auf den entleerten Häuten großer Blasen aus einem Reinholzbirnwein, deren zwei in Fig. 58 abgebildet sind, fanden sich alle Entwickelungsstadien vom Faden zur Zooglöe und bis zur ausgebildeten Blase. Fig. 69 stellt nun ein kleines Stück einer solchen Blasenmembran dar mit einem daran festsitzenden in der Knaulbildung begriffenen Bakterienfaden und zwei bei der Präparation etwas verletzten Zooglöen. In Fig. 70 wurde der Versuch gemacht, bei sehr starker Vergrößerung den Bau einer Zooglöe so darzustellen, daß die zwischen den Einzelbakterien befindliche Kittsubstanz zu erkennen ist. In Fig. 71 und 75 sind zwei je aus einem Bakterienfaden entstandene zusammengesetzte Zooglöen, in den übrigen Figuren Gruppen von Zooglöen in verschiedener Ausbildung und ungleich vorgeschrittener Entwickelung abgebildet.

Wie in der Entstehungsweise, so zeigt sich auch in der Beschaffenheit der Zooglöen in den Obstweinen eine große Mannigfaltigkeit. Oft findet man in einem Obstweintrub fast lauter vereinzelte Zooglöen verschiedener Größe, während in anderen Fällen die meisten in mehr oder weniger losen Gruppen zusammenhängen. Solche Gruppen können aus nur wenigen oder auch aus zahlreichen Zooglöen bestehen; nicht selten finden sich so 20, 50, 100 und mehr Stück in dieser Weise vereinigt. Meist ist der Zusammenhang nur ein loser, so daß, wenn die Zooglöen zu Blasen werden, diese dann ohne Zusammenhang neben einander liegen, wie z. B. Fig. 6 auf Taf. I und Fig. 72, 73 und 77 auf Taf. III zeigen. In anderen Fällen löst sich bei der Umwandlung der Zooglöen in Blasen der Znsammenhang nicht vollkommen und es kommen dann Blasengruppen wie in Fig. 7 und 8 auf Taf. I zustande. Bei großen, aus zahlreichen Zooglöen bestehenden Gruppen, wie solche in Fig. 76 und nur zu einem kleinen Teil in Fig. 79 auf Taf. III dargestellt sind, scheinen in manchen Fällen nur die an der Peripherie gelegenen Zooglöen zu einzelnen Blasen zu werden und sich dann zu trennen, während die inneren sich mit einer gemeinschaftlichen Haut umgeben. Zu den vereinzelten und den in Gruppen vereinigten Zooglöen kommen dann noch die zusammengesetzten, von denen schon oben die Rede war. Sie bestehen aus Zooglöen, die miteinander verschmolzen sind, so daß die Einzelzooglöen nur äußerlich durch die mehr oder weniger tiefen, dazwischen befindlichen Einschnürungen zu erkennen sind. Soweit festgestellt werden konnte, kommen solche zusammengesetzte Zooglöen dann zustande, wenn ein ganzer Bakterienfaden, ohne sich zusammenzuziehen, zur Zooglöenbildung schreitet, in der Art, wie es z. B. in Fig. 28 b auf Taf. I dargestellt ist. Es können aber auch einfache Zooglöen infolge innerer Wachstumsvorgänge Auswüchse bilden, die sich abzurunden suchen, so daß eine solche Zooglöe aus mehreren zusammengesetzt zu sein scheint. Bei der Blasenbildung schnüren sich solche zusammengesetzte Zooglöen oft doch noch weiter ein, so daß aus jedem Teilstück eine gesonderte Blase entsteht, zumal wenn ihr Inhalt aus kurzgliedrigen kokkenähnlichen Bakterien besteht. Solche Blasen lösen sich dann meist

ganz voneinander. Bei langfädigem Inhalt gelingt dagegen die Einschnürung oft nicht vollständig und es entstehen Gebilde, wie sie in den Fig. 45 und 47 auf Taf. II dargestellt sind. Nicht immer schreitet übrigens die Einschnürung so weit wie in diesen Fällen, so daß der verbindende Kanal weiter ist (Fig. 15 und 16 auf Taf. I). Auch die in Fig. 31 d abgebildete Blase wird aus einer zusammengesetzten Zooglöe entstanden sein und wahrscheinlich auch die in Fig. 14 auf Taf. I und Fig. 48 auf Taf. II abgebildete eigenartig geformte, zusammengesetzte Blase. Der Verbindungsstrang zwischen den beiden Ausstülpungen weist nämlich darauf hin, daß diese schon als Vorsprünge der Zooglöe bestanden und nicht erst nachträglich aus der Blase hervorwuchsen. Eine scharfe Grenze zwischen den zusammengesetzten Zooglöen und den Zooglöengruppen besteht naturgemäß nicht.

Die Größe der Zooglöen schwankt zwischen weiten Grenzen. Kleine Exemplare von 10 μ Durchmesser sind häufig; daneben finden sich im gleichen Trub zahlreiche größere von allen Abstufungen bis zu solchen mit Ausmaßen von 500 μ und darüber. Fig. 35 auf Taf. I stellt eine Zooglöengruppe dar, in der neben kleineren eine solche mit über 1 mm Durchmesser sich fand. Ein photographisches Bild einer größeren Zooglöe bietet Fig. 78 auf Taf. III. Die größte näher untersuchte Zooglöe hatte sich in einem 1906er spontan vergorenen Schellerbirnwein gebildet; sie war vollkommen kugelrund und besaß einen Durchmesser von 2,6 mm. Andere von dieser oder noch bedeutenderer Größe wurden nie beobachtet. Wodurch nun diese verschiedene Größe verursacht wird, ist schwer festzustellen. Von Einfluß scheint zunächst der Umstand zu sein, ob zu der Entstehung ein langer Faden oder nur ein kurzes Teilstück beigetragen hat, sodann hängt das weitere Wachstum ohne Zweifel auch von der Ernährung der Bakterien ab; doch kann gerade die ungleiche Größe von zusammenhängenden Zooglöen, wie z. B. in der in Fig. 35 dargestellten Gruppe nicht wohl auf letzteren Umstand zurückgeführt werden.

Auch in ihrer inneren Beschaffenheit zeigen diese in Obstweinen vorkommenden, als Entwickelungsstadien der Blasen aufzufassenden Zooglöen Verschiedenheiten. Da verschiedene Bakterienarten Blasen zu bilden vermögen, so kann nicht überraschen, daß sie sich schon aus diesem Grunde bei Bildung der Zooglöen abweichend verhalten. Dazu tritt dann noch der Einfluß der ungleich beschaffenen Obstweine auf die Gestaltung der Bakterien sowie der Umstand, daß die Bakterien in der gleichen Zooglöe während der Entwickelung ihre Gestalt ändern können. So erscheinen denn manche Zooglöen nachträglich aus Kokken zusammengesetzt, wennschon sie von faden- bezw. stäbchenförmigen Bakterien gebildet wurden. Nicht selten ist die Gestalt der Einzelindividuen eine auffällig unregelmäßige, brockige, ähnlich wie sie Fig. 34 in einer Blase zeigt. Im einen und anderen Falle sind die Bakterien durch eine Art Schleim, der oft geradezu als feste Kittmasse erscheint, miteinander verbunden. Oft aber besteht die Zooglöe aus stäbchenförmigen, durch Schleim aneinander haftenden Bakterien oder sogar aus filzig miteinander verflochtenen oder nach Art eines Fadenknäuels aufgewundenen Fäden, wodurch allein schon, auch ohne die Wirkung eines verbindenden Schleims der Zusammenhang gesichert wäre. Näheres über Beschaffenheit und Verhalten dieser Bakterien wird der Abschnitt VI bringen.

D i e H a u t b i l d u n g, durch die eine Zooglöe zur Blase wird, ist ein eigenartiger, meines Wissens bisher nicht beobachteter Vorgang, dem

die Aehnlichkeit der Blasenhaut mit einer Zellmembran noch besonderes Interesse verleiht. Nicht alle Zooglöen in Obstwein umgeben sich mit einer Haut. Es hängt dies, wie Versuche mit reingezüchteten Bakterien bewiesen haben, in erster Linie von der Beschaffenheit des Mediums ab. Aber auch die spezifischen Eigenschaften der Bakterien sind von Einfluß. Ein bestimmter Gerbstoffgehalt des Obstsaftes scheint eine Hauptbedingung für das Zustandekommen der Blasenhaut zu sein. Ist diese Bedingung nicht erfüllt, so können wohl Zooglöen entstehen, es unterbleibt aber die Membranbildung, und man findet dann im Trub solcher Obstweine oft alte hautlose Zooglöen, bei denen aber die sonst innerhalb der Haut erfolgenden Veränderungen, wie die Verflüssigung der Kittsubstanz wenigstens teilweise doch stattgefunden haben. Manche dieser alten Zooglöen, zumal die aus Bakterienfäden bestehenden, weisen oft eine lange Dauer auf. Sie erscheinen schließlich infolge einer weiteren Streckung der Bakterien als ein aus dicht verflochtenen Fäden gebildetes, nur schwer zerreißbares filzartiges Gebilde, dessen Kern entweder die gleiche Beschaffenheit besitzt wie die Hülle oder aber verflüssigt ist, so daß beim Zerdrücken aus einem Riß der verfilzten Außenschicht eine mit kürzeren Bakteriengliedern durchsetzte Flüssigkeit strömt. Nach dem Gesagten ist es begreiflich, daß in den Obstweinen gewisser gerbstoffarmer Birnen, wie Wasserbirnen, Gelbmöstler, überreifer Teilersbirnen, sich regelmäßig keine Blasen finden, eher noch, wenn auch nicht immer, kommt es daselbst zur Bildung von bloßen Zooglöen.

Ueberträgt man diese in einen gerbstoffreicheren Obstwein, so umgeben sie sich mit einer Haut; es war also nicht etwa an der Bakterienart gelegen, daß sie vorher keine solche zu bilden vermochten, sondern lediglich an der Beschaffenheit des Mediums. Ein Beispiel hierfür bietet der auf Seite 367 beschriebene und in Fig. 30 abgebildete Fall, wo den in Wasserbirnwein gebildeten Zooglöen die Hautbildung erst durch Uebertragung in sterilisierten Fischbächlerwein ermöglicht wurde.

Daß jedoch mit der Anwesenheit von Gerbstoff nicht alle Bedingungen für die Hautbildung erfüllt sind, beweisen Beobachtungen in einem spontan vergorenen ziemlich herb schmeckenden 1899er Reinholzbirnmoste. Im Trub des Weines fand sich im Sommer 1900, nachdem also genügend Zeit zur Hautbildung verstrichen war, eine Menge kugelrunde Zooglöen von 50—400 μ Durchmesser, äußerlich ganz mit Bakterien gefüllten Blasen gleichend. Trotz sorgfältiger Untersuchung ließ sich jedoch bei den meisten eine Haut nicht nachweisen; nur bei einigen größeren war eine dünne Membran festzustellen; sie war aber nicht zu isolieren, denn auf der inneren Seite blieben die Bakterien fest an ihr haften. Es war hier die Hautbildung nicht über das Anfangsstadium hinausgeschritten. Die übrigen, mit diesen sonst vollkommen übereinstimmenden Zooglöen bestanden meist durchweg aus einem fest zusammenhängenden Filz dicht verschlungener Fäden; bei anderen war, wie schon für einen anderen Fall beschrieben wurde, die innere Masse verflüssigt. Eine Anzahl kleinerer verhielt sich aber abweichend. Brachte man sie in Wasser, so sprangen plötzlich, explosionsartig, eine Menge Bakterien von der Oberfläche los und schwammen infolge dieses Stoßes eine kleine Strecke von der Zooglöe weg. Die kleinsten dieser Zooglöen lösten sich schon bei leisem Druck vollständig in rasch im Wasser sich verteilende kurze Stäbchen auf. Auch im 1900er Reinholzbirnwein blieb ein Teil der Zooglöen ohne Haut, während allerdings ein beträcht-

licher Prozentsatz zu wirklichen Blasen sich ausbildete. Wodurch in dem Weine dieser Birnsorte zumal vom Jahre 1899, die Membranbildung erschwert wurde, ließ sich nicht feststellen.

Erschwerend für die Hautbildung wird es auch sein, wenn Zooglöen aus starren längeren Bakterienstäbchen bestehen, die dann überall aus der kompakten Masse herausstehen, wie sich solche z. B. in spontan vergorenem 1899er Teilersbirnwein und 1900er Schellersbirnwein fanden. In den meisten Fällen besitzen aber die Zooglöen eine glatte Oberfläche, was ohne Zweifel für die Entstehung einer Haut günstiger ist.

An einem Beispiel möge zunächst der Vorgang der Hautbildung nebst den Begleiterscheinungen bei den Bakterien dargelegt werden. Die reingezüchtete Bakterie f wird am 3. März 1904 aus einer Gelatinekultur in unvergorenen Reinholzbirnsaft ausgesät, in welchem günstigen Nährmaterial die stäbchenförmigen Bakterien verhältnismäßig rasch zu langen Fäden heranwachsen. Durch Krümmung solcher Fäden, Aneinanderlegen der Teile und weitere Gliederung kommen dann bis zum 22. März Gebilde zustande, wie in Fig. 33 eines abgebildet ist. Die zum Teil verschlungenen Fäden zerfallen offenbar erst dann in kürzere Stücke, wenn sie durch einen oberflächlich gebildeten Schleim zusammengeklebt sind; denn die letzteren lösen sich beim Verschieben des Deckglases nicht voneinander los. Im weiteren Verlauf zerfallen die Fäden eines solchen Anfangsstadiums einer Zooglöe in kürzere Stücke, die nun ihre Beschaffenheit ändern, sie quellen auf, werden stark lichtbrechend und erhalten eine unregelmäßige brockige Gestalt. Beim Zerdrücken von Zooglöen in diesem Entwickelungsstadium in Obstwein oder Wasser bleiben die Bakterien fest aneinander hängen. Jetzt runden sich die meist unregelmäßig gestalteten Zooglöen etwas ab, ihre Oberfläche wird glatter. Dann sieht man allmählich eine sehr dünne hyaline Schicht die äußeren Bakterien überziehen und eine zusammenhängende Hülle um die ganze Zooglöe bilden. Beim Zerdrücken in Flüssigkeit zerfällt die Zooglöe in Stücke, die Bakterien lassen sich aber nicht von dieser Hüllschicht trennen. Erst am 10. April, also ca. 3 Wochen nach Beginn der Zooglöenbildung, löst sich bei Behandlung mit verdünntem Karbol-Glycerin eine deutliche, wenn auch sehr dünne Haut von der zusammenhängenden, beim Zerdrücken nicht auseinanderfließenden Bakterienmasse. Diese besteht jetzt aus gleichartigen, regelmäßig geformten Stäbchen, die durch Teilung und Streckung aus jenen anfänglich vorhandenen dickeren, brockigen Bakterien entstanden sind. Während von nun an die Hautschicht um die Zooglöe immer deutlicher hervortritt, beginnen die Bakterien im Innern sich voneinander zu trennen, die Bindesubstanz wird verflüssigt und zwar meist von innen nach außen fortschreitend. Endlich ist die Haut frei, zeigt deutlich doppelte Kontur und wird nun auch infolge endosmotischer Wirkung des Inhaltes gespannt, die häufig längliche unregelmäßig gestaltete Blase sucht daher Kugelgestalt anzunehmen, beim Platzen einer Blase strömt der jetzt flüssige Inhalt mit den Bakterien in die umgebende Flüssigkeit. In dieser oder ähnlicher Weise fand auch in anderen Fällen die Bildung der Blasenhaut statt.

Man könnte nun der Anschauung zuneigen, die Gesamtheit der dicht aneinanderliegenden peripheren Bakterien einer Zooglöe würde hierbei die gleiche Funktion übernehmen wie die äußere Protoplasmaschicht einer membranlosen Pilzzelle z. B. einer Schwärmspore, die sich mit einer Haut umgibt; wie hier, würde auch dort und zwar durch die Bakterien Cellulose, wahrscheinlich Pilzcellulose möglichenfalls auch ein

sind nicht etwa frühere Entwickelungsstadien der großen, sondern es können in der gleichen Nährflüssigkeit, oft sogar zu einer Gruppe vereinigt, große und kleine Zooglöen gleichzeitig zur Hautbildung übergehen, so daß dann auch verschieden große Blasen nebeneinander sich befinden. Dagegen hat die direkte Beobachtung von größeren makroskopisch wahrnehmbaren Blasen auf dem Trub der Gärgefäße wiederholt zu der Ueberzeugung geführt, daß auch nach der Hautbildung ein weiteres Wachstum der Blasen stattfinden kann. Auch die Betrachtung von Blasen, wie sie Fig. 1 zeigt, führt zu dem nämlichen Resultat. Die relativ geringe Menge der in ihnen enthaltenen Bakterien kann niemals eine Zooglöe von dem mächtigen Volumen der Blasen gebildet haben, selbst wenn man annimmt, daß die Kittsubstanz zwischen den Einzelbakterien stark entwickelt war. Wenn aber die Zooglöe zur Zeit der Membranbildung kleiner war, so muß die Blase nachher noch gewachsen sein. Das einfachste Mittel, die vorliegende Frage zu beantworten, wäre die direkte Messung an wachsenden Blasen. Leider stellten Zooglöen und Blasen, sowie man sie isoliert im hängenden Tropfen oder zwischen Objektträger und Deckglas der mit dem Nährmedium gefüllten feuchten Kammer beobachten wollte, regelmäßig jede Weiterentwickelung ein. Es scheinen gewisse Stoffe in der geringen zur Verfügung stehenden Menge von Nährflüssigkeit zu rasch erschöpft zu werden. Infolge mannigfaltiger Versuche war es aber dennoch möglich, in einem 1900er Schellerbirnweine das Wachstum durch direkte Messung festzustellen. In den zu einem anderen Zwecke mit diesem Obstwein aufgestellten Gärflaschen entwickelten sich ausnahmsweise zahlreiche Blasen an der Flaschenwand, wo sie dann mit einem horizontal eingestellten Mikroskop gemessen werden konnten. Leider hatte man diese zur Lösung gewisser Gärungsfragen bestimmten Gefäße nur während der Hauptgärung täglich beobachtet bezw. gewogen und dann zum Zwecke späterer chemischer Untersuchung auf die Seite gestellt. Jetzt erst entwickelten sich die Zooglöen und Blasen, und als am 11. Februar zur Untersuchung geschritten werden sollte, hatten die Blasen ihr Wachstum schon bald abgeschlossen. Immerhin konnte unter 16 gemessenen Blasen bei 12 ein deutliches, wenn auch langsames Wachstum festgestellt werden. Der Durchmesser betrug z. B. bei folgenden 6 Blasen:

	am 11. Februar	am 18. Februar	am 6. März	Gesamtzuwachs absolut	Gesamtzuwachs relativ
No. 1	720 μ	771 μ	817 μ	97 μ	11 Proz.
„ 2	650 „	700 „	775 „	125 „	19 „
„ 3	550 „	587 „	650 „	100 „	18 „
„ 4	391 „	416 „	450 „	59 „	15 „
„ 5	200 „	225 „	258 „	58 „	29 „
„ 6	183 „	200 „	225 „	42 „	23 „

Das absolut stärkste Wachstum zeigte die Blase 2, deren Durchmesser um 125 μ zunahm. Relativ, d. h. auf die anfängliche Größeneinheit bezogen, war der Zuwachs bei Blase 5 am bedeutendsten; er betrug hier 29 Proz.; ein Stück der Blasenhaut von 100 Länge hatte sich in der betreffenden Zeit auf 129 gestreckt. Durch ein solches Wachstum der Blasenhaut würde das Volumen der Blase auf mehr als das Doppelte vergrößert.

Auffällig war in diesen mit Gärverschluß versehenen Flaschen, daß die Blasen um so geringere Größe besaßen, je weiter sie vom Boden des Gefäßes entfernt waren. Die größten Blasen mit einem Durchmesser bis zu 1,5 mm fanden sich direkt auf dem Trub oder diesem ganz nahe

an der Wand. Am unteren Viertel der Flaschenwand saßen sodann viele Blasen von ca. 1 mm Durchmesser, zahlreiche waren aber noch kleiner von 0,1 bis 0,5 mm und darunter. Weiter nach oben nahm die Zahl der großen Blasen rasch ab, aber auch die kleineren waren nicht mehr so zahlreich. Im 2. Viertel der Flaschenhöhe fanden sich nur noch vereinzelte mit einem Durchmesser über 0,5 mm, die Großzahl war beträchtlich kleiner. Im 3. Viertel der Höhe saßen an der Wand überhaupt nur noch wenige und ausschließlich kleine Blasen. Das obere Viertel der Flaschenwand war von Blasen frei. Der Grund für dieses Verhalten ist wohl darin zu suchen, daß die dem Trub näher befindlichen Zooglöen besser ernährt waren, deshalb sich stärker entwickelten und dann auch größere Blasen bildeten.

In diesem Falle waren die Blasen ganz oder fast ganz mit Bakterien gefüllt; es konnte daher an eine direkte An- oder Einlagerung von Hautsubstanz durch die Bakterienmasse gedacht werden. Allein schon die bloße Betrachtung größerer vollkommen ausgebildeter Blasen mit verhältnismäßig geringem Bakterieninhalt weist darauf hin, daß auch in einem späteren Entwickelungsstadium, wenn die Bakterien die Blasen nicht mehr ausfüllen, noch ein weiteres Wachstum der Haut stattfinden kann. Im Verlauf der weiteren Untersuchung gelang es mir dann wirklich, ein solches Wachstum festzustellen. In Gärflaschen wurde ein am 22. März 1904 sterilisierter 1903er Marxenbirnsaft mit der aus Teilersbirnwein gewonnenen reingezüchteten Milchsäurebakterie g geimpft. In den bei ziemlich konstant 15° aufgestellten Gärflaschen entwickelten sich Zooglöen zum Teil auch an der Flaschenwand und aus diesen dann Blasen. Deren aus fädigen Bakterien bestehender Inhalt zog sich allmählich von der Wand zurück, etwa in der Weise, wie dies Fig. 9 zeigt, und schließlich nahm die Bakterienmasse die Gestalt einer Kugel an, die nur noch am Grunde mit der weiter gewordenen Blasenhaut in Berührung stand. Am 10. Mai, also beinahe 2 Monate nach der Aussaat, und dann nach gewissen Zeitintervallen nahm ich bei einigen dieser Blasen Messungen vor. Ihr Durchmesser betrug in Mikromillimetern:

am	19. Mai	25. Mai	4. Juni	13. Juni	19. Juni.	30. Juni	Gesamtzuwachs absolut	Gesamtzuwachs relativ
1	75	—	—	133	142	150	75 μ	100 Proz.
2	225	242	270	292	300	325	100 „	44 „
4	208	225	250	267	283	292	84 „	40 „

Durch diese Beobachtungsreihen ist ein Wachstum der Blasen nach vollkommener Ablösung der Bakterien von der Wand erwiesen. Zwar ist dieses Wachstum ein langsames, allein es war auch die Temperatur (15°) eine verhältnismäßig niedere und zudem wurden die Messungen an ziemlich weit in der Entwickelung vorgeschrittenen Blasen vorgenommen. Weitere Beobachtungen, wobei aber exakte Messungen nicht möglich waren, ergaben beträchtlich raschere Wachstumzunahmen; in einem Falle konnte eine solche auch durch Messung festgestellt werden, indem eine von Bacterium f in Marxenbirnsaft bei 15° gebildete Blase in 5 Tagen ihren Durchmesser von 183 auf 238 μ brachte; also um 30 Proz. vergrößerte. Bei einigen solcher Messungen wurde auch der Durchmesser der im Innern der Blasen von Bacterium g in Marxenbirnsaft befindlichen Bakterienkugeln bestimmt. In der folgenden Zusammenstellung geben die gewöhnlichen Zahlen den Durchmesser der Blasen, die in Klammer eingeschlossenen den Durchmesser der Bakterienmassen in Mikromillimetern an:

	4. Juni	13. Juni	19. Juni	27. Juni	3. Juli
1	417 (267)	450	475 (267)	500	508 (267)
2	275 (200)	283	292 (200)	300	307 (200)

Die Bakterienmasse selbst veränderte demnach während des abschließenden Wachstums der Blase ihren Umfang nicht in merkbarer Weise. Im Gegensatz hierzu fand in einer in Schellerbirnsaft von 1906 gebildeten Blase von 2,6 mm Durchmesser vom Zeitpunkt des Zusammensinkens der Bakterien an eine weitere Größenzunahme nicht statt; allerdings war auch der Birnwein schon vorher vollständig vergoren. Bei den Schwierigkeiten, die einer Vorstellung vom Wachstum der Blasenhaut entgegenstehen, wäre es erwünscht gewesen, bei einer Anzahl Blasen den Verlauf des Wachstums während der ganzen Entwickelung zu bestimmen; es gelang aber nicht.

Von großem Interesse scheint mir die Frage zu sein, wie unter solchen Umständen ein Wachstum der Blasenwand stattfinden kann. Beim Wachstum von Zellwänden werden vom Protoplasma aus neue Zellstoffteile der Membran ein- oder angelagert, und es kann diese nach der herrschenden Vorstellung nur so lange in die Fläche wachsen, als sie mit Protoplasma in Berührung steht. Solange die Bakterienmasse die Blase vollkommen ausfüllt und also der Haut überall anliegt, könnte man versucht sein, ihr gewissermaßen die Funktion eines Protoplasten zuzuschreiben; allein wenn die Bakterien die Blase nur noch zum Teil füllen, so muß die Ausdehnung der letzteren in anderer Weise stattfinden. Der Annahme, es finde in diesem Stadium keine weitere Substanzvermehrung der Haut statt, sondern nur noch eine plastische Dehnung, steht die Beobachtung entgegen, daß die Membran nicht bemerkbar dünner wird. Man erhält vielmehr den Eindruck, daß sie während dieses Flächenwachstums auch noch an Dicke zunimmt. Genauere Messungen mit stärkeren Objektiven ließen sich wegen der Dicke der Flaschenwand nicht ausführen. Aehnlich wie beim Wachstum von Zellwänden könnte man sich nun dasjenige einer Blasenhaut zustande kommend denken entweder durch Intussusception oder aber durch Apposition und plastische Dehnung. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß beide Vorgänge zusammenwirken. Man hätte sich dann vorzustellen, daß bei mit Bakterien gefüllten Blasen die Abgabe neuer wandbildender Partikel direkt stattfinden würde, bei solchen, wo die Bakterien die Blase nur noch teilweise füllen, würden Moleküle der membranbildenden Substanz durch die Blasenflüssigkeit nach der Haut wandern und dort an- oder eingelagert werden. Es sind übrigens auch bei den höheren Pflanzen Beispiele des Flächenwachstums von Zellhäuten bekannt, wo die Membran nicht mit dem Protoplasma in Berührung steht, wo also das Baumaterial der wachsenden Zellwand nicht von der eigentlichen lebenden Substanz angefügt wird, sondern wahrscheinlich infolge molekularphysikalischer Vorgänge zuwandert. Es sei nur an die von Fittig[1]) dargestellte Entwickelung der Makrospore von Selaginella helvetica erinnert, wo die äußere Sporenmembran noch ein beträchtliches Flächen- und Dickenwachstum erfährt, obgleich sie vom Protoplasma der Spore durch eine innere Haut (Mesospor) getrennt ist. Außerdem befindet sich zwischen Exospor und Mesospor eine substanzarme wässerige Flüssigkeit, und nicht allein durch das Mesospor, sondern auch durch diese Flüssigkeit muß das Baumaterial für das Exospor wandern, um sich dann dessen Bau an- bezw. einzufügen. Auch

1) Bot. Zeitung. Bd. LVIII. 1900. Seite 107. Vgl. auch Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904. Seite 322.

bei den Blasen werden, wohl veranlaßt durch die Oberflächenspannung an der Haut, weitere Moleküle der hautbildenden Kolloide aus dem Innern dorthin wandern und sich an, vielleicht zum Teil auch zwischen die schon vorhandenen Teilchen der Haut lagern und so, noch unterstützt vom Turgor der Blase, ein Wachstum der Blasenmembran ermöglichen. So wäre ein Wachstum der Membran denkbar, auch nachdem die Bakterien sich schon von ihr getrennt haben. Wie bei der Anlage der Haut, so wird der Gerbstoff des Birnsaftes wahrscheinlich auch bei ihrem weiteren Wachstum beteiligt sein, indem er, von außen her eindringend, Löslichkeit und Permeabilität verändert.

Ein gewisses Interesse bietet auch die Formgestaltung der Bakterienblasen bei ihrem Wachstum. Die in den verschiedenen Obstweinen aufgefundenen Blasen besaßen meist eine ziemlich vollkommene Kugelgestalt; zumal kleinere Blasen zeigen gewöhnlich diese Form, aber auch bei den größeren ist diese oft anzutreffen. Die Zooglöen, aus denen ja die Blasen entstehen, sind oft weniger regelmäßig geformt, hie und da mehr länglich als rund, oder etwas abgeplattet, an der Oberfläche öfters Buckel oder Unebenheiten aufweisend. Bei der Anlage der Haut überzieht diese die Zooglöe, liegt ihr dicht an; sie ist also unregelmäßig gestaltet und verharrt in diesem Zustande, bis die Verflüssigung der Bindesubstanz zwischen den Bakterien beginnt. Dann folgt die Haut immer mehr ihren eignen Spannungsverhältnissen und durch diese und den von nun an wirksamen Turgor wird das Wachstum derart beeinflußt, daß allmählich die Kugelgestalt zustande kommt. Wie man sich diese Vorgänge vorzustellen hat, möge folgendes Beispiel zeigen. Damit aus einer länglichen eine runde Blase entstehen kann, muß die auf den Längsflächen gebildete Membran sich ausbauchen. An diesen Stellen wird aber auch durch den Turgor die stärkste plastische Dehnung erzielt. Diese wiederum verursacht eine gesteigerte Anlagerung oder eventuelle Zwischenlagerung membranbildender Teile; so kann sich eine Blase allmählich abrunden und ihre Haut wird in der Gestalt einer Kugeloberfläche die Gleichgewichtslage der verschiedenen Partien erreichen. Die Bakterienblasen verdanken demnach im Grunde genommen ihre Kugelgestalt den gleichen physikalischen Gesetzen, infolge derer eine freischwebende Seifenblase rund ist. Während aber hier die flüssige Haut allen Spannungsverhältnissen sofort nachgibt, kann eine ungleich gespannte Blasenhaut infolge ungleichen Flächenwachstums, also nur ganz allmählich, den Gleichgewichtszustand erreichen.

Es gibt nun aber auch Bakterienblasen, die nicht die Kugelgestalt besitzen. Bei diesen müssen daher außer den erwähnten noch andere Faktoren auf die Formgestaltung einwirken. Einen maßgebenden Einfluß übt nun, wie verschiedene Beobachtungen zeigen, die ursprüngliche Form der Zooglöe aus. Ist diese zur Zeit der ersten Hautbildung langgestreckt und die nachträgliche Größenzunahme nicht bedeutend, so überwiegt auch später noch der Längendurchmesser über den Querdurchmesser und die Blase besitzt schließlich eine elliptische Gestalt. Bei einer Reinkultur der Bakterie a in Marxenbirnsaft konnte ein eigentümlicher Spezialfall des Zustandekommens einer solchen elliptisch geformten Blase beobachtet werden. Zwei nebeneinander liegende runde Zooglöen hatten sich mit einer gemeinschaftlichen Haut umgeben und so eine Blase gebildet, die statt vollständig kugelige eine mehr längliche, walzenartige Gestalt annahm. Bei der mannigfaltigen Gestalt mancher Zooglöen ist es gar nicht überraschend, daß auch die Blasen nicht immer

kugelrund sind. Langgestreckte Zooglöen, die auf der einen Seite mächtiger ausgebildet sind als auf der anderen, bilden leicht eiförmige Blasen; doch scheinen solche, wie sie z. B. in Fig. 1 dargestellt sind, auch auf andere Weise zustande kommen zu können. Teilweise im Weintrub steckende Blasen zeigen nämlich oft die Eiform, wobei der untere Teil verjüngt ist. Ob in diesen Fällen schon die Zooglöe eiförmig war oder aber, was mir wahrscheinlicher deucht, ein anderer Umstand das nachträgliche Wachstum der Blase in diesem Sinne beeinflußte, konnte nicht mit Sicherheit entschieden werden. Während in manchen Versuchsgefäßen sämtliche darin entstandenen Blasen vollkommene Kugelgestalt besaßen, fanden sich, allerdings weniger häufig, solche, in denen zur Mehrzahl Blasen mit Eiform oder gar mit Birn- oder Flaschenform sich gebildet hatten. Die in Fig. 62 abgebildeten birnförmigen Blasen stammten z. B. aus einer während eines Jahres im Keller liegend aufbewahrten Flasche mit Spätbirnwein und es zeigten die zahlreichen in ihr enthaltenen Blasen fast sämtliche solche von der Kugelgestalt abweichende Formen.

Wie schon auf Seite 357 erwähnt wurde, weisen viele Blasen, auch sonst vollkommen runde, einen kurzen, unten abgerundeten Stiel, eine Art „Nabel" auf (vergl. z. B. Fig. 41, 57). Auch für die Entstehung dieser häufig scharf von der Kugeloberfläche abgesetzten, oft aber mehr allmählich in sie verlaufenden Nabels vermag ich keine abschließende Erklärung zu geben. Soweit die Beobachtungen zeigen, handelt es sich nicht etwa um einen nachträglichen Auswuchs, sondern um ein Gebilde, das von Anfang an der Blase eigen ist und regelmäßig die Ansatzstelle bildet. Hängen mehrere Blasen, infolge gemeinsamer Entstehung, noch zusammen, so geschieht es an diesen nabelförmigen Vorsprüngen. Häufig konnte auch festgestellt werden, daß Blasen mit dem Nabel im Weintrub steckten und oft auch saßen an dem Nabelende Flocken von Fadenbakterien fest, die sich ohne Verletzung der Blase nicht entfernen ließen. Es erscheint nicht wahrscheinlich, daß bei Entstehung der Haut an der im Trub steckenden Nabelstelle außerhalb befindliche Bakterien mit ihr verklebt und schließlich verwachsen sind; denn mitten im Trub entstandene Blasen sind an der sonstigen Oberfläche meist frei von derartigen Anhängseln, die Haut ist glatt und rein. In manchen Fällen mag die Entstehung eines Nabels an den Blasen bedingt sein durch die Beschaffenheit der Bakterien zur Zeit, wo die Zooglöen sich abrunden und voneinander trennen, indem letzteres bei Vorhandensein langer Bakterien gar nicht oder unter Zurücklassung nabelartig vorgewölbter Abschnürungsstellen geschieht, worauf die in den Fig. 15, 45 und 47 abgebildeten und andere ähnliche Vorkommnisse hinweisen (vergl. auch Seite 364). Damit stimmt dann allerdings das in Fig. 37 dargestellte Anfangsstadium nicht überein; denn bei diesem gewinnt es den Anschein, als ob die Erhöhung auch bei einer einzelnen Blase unabhängig von äußeren, also aus inneren Ursachen entstände; doch widerstrebt es mir einigermaßen, bei diesen Blasen ähnlich wie bei lebenden Zellen „innere" Ursachen der Formgestaltung anzunehmen, wenngleich das als Nabel bezeichnete Gebilde in zahlreichen Fällen, in manchen Versuchsgefäßen an Hunderten von Blasen, in übereinstimmender Form zu beobachten war. Da in vielen Fällen der Nabel in den Trub eingesenkt ist, kann vielleicht auch die hierdurch bedingte ungleiche Ernährung dieses und des übrigen Teiles der Zooglöe oder Blase von Einfluß sein. Bei an der Flaschenwand festsitzenden Blasen konnte nie ein Nabel be-

obachtet werden; sie sitzen mit einer breiten Fläche der Wand auf, sind mit ihr verwachsen, so daß es gewöhnlich nicht gelang, sie unverletzt abzulösen.

Noch bleibt ein Vorkommnis zu schildern, das zum Verständnis der dargelegten Wachstumsvorgänge beitragen kann. In Reinkulturen der Bakterien a und f traten zu wiederholten Malen Blasen mit eigenartigen schlauchförmigen Auswüchsen auf und zwar zeigte da, wo dies der Fall war, gleich ein großer Teil der Blasen solche Gebilde. Offenbar hängt die Erscheinung von der Beschaffenheit des Obstsaftes ab, denn in anderen Fällen blieb sie in Kulturen der gleichen Bakterien aus. Ein 1903er Saft von Marxenbirnen, der, nach dem Geschmacke beurteilt, ziemlich viel Gerbstoff enthielt, wurde am 23. März 1904 sterilisiert, mit der Bakterie a infiziert und in einem Raume mit durchschnittlich 18⁰ aufgestellt. Am 25. April waren zahlreiche Zooglöen und Blasen vorhanden, von denen die meisten schlauchförmige Auswüchse zeigten. In Fig. 20 ist ein solches Gebilde dargestellt. An der dicht mit Bakterien (Kurzstäbchen) gefüllten Blase war die Haut kaum zu erkennen; deutlicher hob sie sich nach der Ansatzstelle des Schlauches hin ab. Dieser ist auf der ganzen Länge gleichmäßig weit, cylindrisch und wenigstens ein Stück weit eng schraubenförmig aufgerollt, am Ende geschlossen. Das ganze Gebilde war noch gleichmäßiger und glatter beschaffen, als die Zeichnung erkennen läßt. Die Haut erschien ähnlich einer Blasenhaut glänzend, absolut glatt, lückenlos und überall gleich dick. Bakterien fanden sich bei diesem Exemplar nur im Anfangsteile des Schlauches und in kleiner Zahl an dessen Ende. Manche dieser Gebilde boten einen noch auffallenderen Anblick dar; so besaß eines einen Schlauch, ähnlich dem soeben beschriebenen, aber von der Basis bis zum Ende zu einer regelmäßigen Schraube, sogenannten Spirale, mit 28 Windungen aufgerollt. In einzelnen Fällen stand der Schlauch nicht mit einer Blase sondern mit einer Zooglöe in Verbindung, wenigstens war selbst beim Zerdrücken von einer Membran nichts zu sehen. Es fanden sich aber auch vollständig ausgebildete abgerundete, mit deutlicher Haut versehene Blasen, die einen Schlauch oder auch mehrere aufwiesen; doch war für diese Fälle jeweils eine genaue Feststellung erforderlich, denn hie und da saßen größeren Blasen Zooglöen mit breiter Basis auf, die dann an ihrem nach außen gekehrten zugespitzten Teil den schlauchartigen Fortsatz bildeten. Nicht immer waren die Schläuche schraubenförmig aufgerollt, häufiger noch zeigten sie eine unregelmäßige Gestalt, wie z. B. in Fig. 19 dargestellt ist; immerhin waren sie auch in solchen Fällen in ihrer ganzen Ausdehnung von auffallend gleichmäßiger Dicke. Die Länge der Schläuche war oft im Verhältnis zur Zooglöe oder Blase recht beträchtlich, so besaß in einem Falle die letztere, die in der Beschaffenheit mit der von Fig. 20 übereinstimmte, einen Längsdurchmesser von 45 μ, der unregelmäßig gewundene, jedoch überall gleich dicke Schlauch eine Länge von 1725 μ. Da dieser lange Schlauch mit Ausnahme eines kurzen Anfangsstückes keine Bakterien enthielt, mußte das Material zu seinem Aufbau von der Zooglöe oder Blase bezw. von den in diesen enthaltenen Bakterien hergestellt worden sein, was einer bedeutenden Leistung gleichkommt.

Wie die Länge der Schläuche, so variiert auch deren Dicke. Im allgemeinen entstehen an größeren Blasen auch mächtigere Schläuche, doch fanden sich auch viele Ausnahmen von dieser Regel. So bildete z. B. eine Zooglöe (mit nicht deutlich erkennbarer Membran) von 45 μ

Längs- und 30 μ Querdurchmesser einen Schlauch von 375 μ Länge und 14 μ Dicke, die bereits erwähnte, ungefähr gleich große Zooglöe oder Blase den 1725 μ langen Schlauch von 4,5 μ Dicke, die in Fig. 19 abgebildete Blase mit einem Durchmesser von 120 μ dagegen einen Schlauch von nur 5 μ Dicke. Wie in den angeführten Beispielen, so enthielt auch in den übrigen Fällen der Schlauch selbst nur wenige Bakterien, oft nur bis auf eine Entfernung von 10—20 μ von der Zooglöe oder Blase weg, manchmal aber auch auf 50—100 μ Entfernung und mehr. Auffallenderweise befand sich dann in vielen Fällen noch eine kleine Gruppe von Bakterien von den ersteren weit entfernt, am Ende des Schlauches, den Anschein erregend, als hätten sie beim Abschluß desselben mitgewirkt. Da jedoch bei anderen ebenfalls abgeschlossenen Schläuchen diese Bakteriengruppe fehlte, so wäre eine solche Schlußfolgerung unberechtigt. Auf Grund von weiteren Beobachtungen glaube ich vielmehr annehmen zu dürfen, daß beim Beginn der Schlauchbildung die ausgeschiedene Flüssigkeit unter Umständen mehr oder weniger zahlreiche peripherisch gelagerte Bakterien der Zooglöe losreißt und beim weiteren Wachstum des Schlauches vor sich herschiebt.

Am Ende waren die Schläuche in der Regel abgerundet, geschlossen; doch fanden sich auch solche, wo das Ende anders beschaffen war. Es hatte dann die Beschaffenheit einer überall gleich dicken offenen Röhre, in der kurz vor der Mündung eine Querwand ausgespannt ist. Das Zustandekommen dieses abweichenden Abschlusses konnte ich nicht beobachten; es dürfte in diesen Fällen wohl das Endstück abgebrochen und in dem bleibenden Teil als neuer Abschluß eine Querwand entstanden sein.

Eine etwas andere Gestaltung, als soeben beschrieben wurde, zeigten die Schläuche in einer Reinkultur der Bakterie f in Wasserbirnsaft. Manche Blasen hatten hier Auswüchse gebildet, die sich abrundeten, so daß das Ganze einer Hefezelle mit durch Knospung entstandenen Tochterzellen ähnlich war, nur eben andere Größenverhältnisse und anderen Inhalt, nämlich Bakterien, aufwies. Wieder aus anderen Blasen waren borstenförmige kurze Schläuche hervorgewachsen. In Fig. 21 ist eine solche Blase abgebildet, bei der neben Sprossungen auch noch solche kurze zugespitzte Schläuche entstanden waren.

Wiederum anders gestaltet waren die Schläuche in einer Reinkultur der Bakterie f in 1903er Marxenbirnsaft. Hier saßen an der Wand der Flasche zahlreiche Blasen und von diesen stiegen, schon dem bloßen Auge sichtbar, mehr oder weniger lange, meist unregelmäßig gekrümmte Schläuche in die Höhe. Fig. 17 stellt eine solche Blase dar, die einen kürzeren und einen längeren Schlauch gebildet hatte. Letzterer war ca. 22 mm lang, an der Basis etwas über 0,1 mm dick und wurde gegen das Ende allmählich dünner. Auch in einer Reinkultur von Bakterie a in Schellerbirnsaft waren Blasen mit solchen Schläuchen vorhanden. Sowohl bei der einen als der anderen Kultur fanden sich auf dem Boden der Flaschen derartige Blasen zu vielen Hunderten. Bei einzelnen stiegen die Schläuche ebenfalls schräg oder senkrecht nach oben, bei den meisten schienen sie, ähnlich wie dies Fig. 18 zeigt, etwas zusammengesunken; doch können sie auch gleich in dieser Form gewachsen sein; denn es wurde nicht beobachtet, daß sie vorher aufrecht standen.

Ein besonders stark entwickelter Schlauch mit eigenartiger Endbildung wurde bei einer in 1903er Marxenbirnsaft gezüchteten, mit f

verwandten Bakterie p beobachtet. Am Boden der Gärflasche waren mehrere Blasen entstanden. Eine derselben von kugelrunder Gestalt und 2 mm Durchmesser hatte einen einzelnen Schlauch gebildet, der sich, der Flaschenwand anliegend, senkrecht in die Höhe erstreckte, allerdings nicht in straff gerader Richtung, sondern mit zahlreichen kleinen flachen Krümmungen. Die Dicke dieses etwa 11 cm langen, bis an die Flüssigkeitsoberfläche reichenden Schlauches betrug auf der ganzen Länge ziemlich gleichmäßig 70—80 μ. Erst etwa 1 mm unter dem Niveau beginnend, hatte er eine trichterartige Erweiterung gebildet und an der Oberfläche war der Rand dieses Trichters zu einer auf der Weinoberfläche schwimmenden Haut erweitert, die sich besonders der Flaschenwand entlang (auf ca. 2 cm) ausbreitete und von der aus sich einzelne Lappen oder Stränge an der Wand etwas aufwärts erstreckten.

Schlauchlose Blasen aus einer Kultur der Bakterie f in Marxenbirnsaft ermöglichten, das Wachstum dieser Art von Schläuchen direkt zu beobachten. Versuche in mit dem Birnsaft gefüllten feuchten Kammern führten zunächst nicht zum Ziel, dagegen folgendes Verfahren. In flacher, dünnwandiger offener Schale lagen Blasen in Marxenbirnsaft. Wurde nun mit Sorgfalt auf die Oberfläche des Saftes etwas destilliertes Wasser gebracht und die Schale in eine mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegte Doppelschale gestellt, um eine ganz allmähliche Abnahme der Saftkonzentration zu erreichen, so zeigten nach 12 Stunden die meisten Blasen borstenförmige Auswüchse, ähnlich den in Fig. 21 dargestellten, nur merklich länger. Diese Schläuche waren von einem feinkörnigen Gerinnsel umgeben, was in dem sonst ganz klaren Saft sofort auffiel. Es gelang schließlich, diese Vorgänge mit dem Mikroskop zu beobachten. Blasen von Bakterium f aus einer am 3. März 1904 mit Marxenbirnsaft angesetzten Kultur wurden am 4. Mai in feuchte Kammern (v. Leybold) in den gleichen Marxenbirnsaft gelegt. Nachdem diesem ein Tropfen destilliertes Wasser, ca. 20 Proz. des Volumens, beigefügt war, wurde sofort ein Deckglas aufgelegt und die Kammer unter das Mikroskop gebracht. Schon nach wenigen Minuten begann regelmäßig die Bildung eines oder mehrerer Schläuche. Fig. 22 stellt einen solchen während der Beobachtung unter dem Mikroskop gewachsenen Schlauch dar. Während des Wachstums war er am vorderen Ende offen und verlängerte sich nun rasch, indem vorn neue Wandpartieen sich ansetzten. Offenbar strömte aus der Blase eine Flüssigkeit durch den Schlauch nach außen; denn vor der Oeffnung entstand fortwährend das in der Figur angedeutete Gerinnsel; die ausströmende Substanz bildete mit gewissen Stoffen des Obstsaftes, wahrscheinlich dem Gerbstoff, einen Niederschlag. Die durch den Schlauch nachströmende Flüssigkeit mußte auch die zur Membranbildung erforderlichen Stoffe enthalten. Die Gerinnselbildung eilte dem Wachstum des Schlauches immer etwas voraus. Die Bewegung der durch den Schlauch vorwärtsdringenden und an der Mündung austretenden Flüssigkeit konnte aber nicht direkt beobachtet werden, da sie weder Bakterien noch sonstige feste Bestandteile enthielt. Auffallend war nun die Beschaffenheit der Haut des in so rascher Weise entstandenen Schlauches. Sie erschien, auf dem optischen Längsschnitt betrachtet, als aus lauter aneinander gefügten Stücken zusammengesetzt, wie in Fig. 22 b bei 500-facher Vergrößerung dargestellt ist. Wenn auch die Flächenansicht durch anhaftende Teile des Gerinnsels etwas undeutlich war, so konnte man doch beobachten, daß die einzelnen Ansatzstücke nur einen kleinen Teil des Umfanges

des Schlauches einnahmen. Die Mächtigkeit des Gerinnsels stand in gewissem Verhältnis zur Dicke des Schlauches. Wie die weiter von der Blase entfernten Schlauchpartieen enger wurden, war auch die Gerinnselschicht weniger mächtig. Bei a war z. B. der Durchmesser des Gerinnsels 85 μ, derjenige des Schlauches 17 μ, bei b betrugen die Ausmaße 60 und 11, bei c bei der Biegung 45 und 8 μ. Die Mächtigkeit der Wand war dagegen auf der ganzen Länge des Schlauches die nämliche. Es war ein merkwürdiges Schauspiel zuzusehen, wie der Schlauch durch Ansetzen eines Stückes nach dem anderen an die offene Mündung sich verlängerte und wie dann schließlich die in 22 c ebenfalls bei 500-facher Vergrößerung dargestellte Spitze formiert wurde. Eine erschöpfende Auskunft über die beim Wachstum des Schlauches stattfindenden Vorgänge konnten auch diese Beobachtungen nicht ergeben. Bezüglich der Entstehung dieses Schlauches bin ich zu der Anschauung gelangt, daß innerhalb der Blase, zwischen und neben den Bakterien eine von diesen gebildete Substanz sich befindet, die zur Hautbildung geeignet ist. Infolge der Verdünnung des Birnsaftes findet eine Wasseraufnahme in die Blase statt, ihre Haut stülpt sich an einer oder mehreren Stellen aus, wird hier dünner, bricht durch und es tritt nun ein Teil des Blaseninhaltes aus, in der angrenzenden Saftmenge sofort einen Niederschlag, ein Gerinnsel bildend. Nach diesem mehr stürmischen Vorgang kann nun an der Mündung am Umfange der durch das Gerinnsel strömenden Flüssigkeit eine ruhige Anlageruug von Membranstücken, die Bildung einer Niederschlagsmembran stattfinden. Es führt die ganze Erscheinung zu der Vorstellung, daß zur Bildung der Membran nicht die nämlichen, sondern andere Substanzen beitragen als zu derjenigen des Gerinnsels. Dafür spricht auch der Umstand, daß dieses in seiner ganzen Ausdehnung gleichmäßig locker beschaffen ist, während die feste Schlauchmembran davon scharf abgegrenzt erscheint. Das Gerinnsel zeigt die Beschaffenheit eines gewöhnlichen, flockigen Niederschlages, die Art und Weise, wie der Schlauch durch Anlagerung kleiner Teile regelmäßig aufgebaut wird, hat dagegen einige Aehnlichkeit mit der Größenzunahme eines Kristalls.

Bei dieser Blase wurde auch die Wachstumsgeschwindigkeit des Schlauches gemessen. Die Blase besaß einen Durchmesser von 203 μ und war mit zu krausen Fäden verbundenen Stäbchenbakterien ganz gefüllt. Nachdem der auswachsende Schlauch etwa 200 μ weit gewachsen war, bildete er eine rechwinklige Biegung, um sich von da an ziemlich geradlinig zu verlängern. Kleinere Krümmungen und Unebenheiten ermöglichten jeweils eine neue Einstellung auf den Nullpunkt des Maßstabes. Die Ablesungen wurden jede Minute vorgenommen. Von der rechtwinkligen Krümmungsstelle an betrug die Längenzunahme:

von 0—5	Minuten	145 μ	von 20—25	Minuten	112 μ
5—10	„	151 „	25—30	„	154 „
10—15	„	162 „	30—35	„	206 „
15—20	„	122 „			

und hierauf wurde dann rasch die schlanke Spitze gebildet. Von Minute 20—25 wuchs der Schlauch schräg aufwärts, so daß für diese Zeit die Längenzunahme etwas zu niedrig angegeben ist. Bis zu Minute 25 war der Schlauch nahezu gleich weit, ca. 17—15 μ, von da an nahm er rasch an Mächtigkeit ab und dadurch mag wohl das wieder etwas beschleunigte schließliche Wachstum verursacht worden sein. Wie von unsichtbarer Hand wurde in rascher Folge Baustein an Baustein gefügt. Die während

35 Minuten beobachtete Längenzunahme betrug im ganzen 1052 μ oder auf eine Stunde berechnet 1,8 mm.

Da die Bakterien wohl nicht auf einmal in so kurzer Zeit eine solche Menge membranbildender Stoffe herstellen konnten, so muß man wohl annehmen, daß diese schon in der Blase aufgespeichert waren; es dürften die nämlichen Stoffe sein, die auch beim Entstehen und Wachstum der Blasenhaut verwendet werden.

Die an diesem Schlauch gemachten Beobachtungen reichen jedoch nicht aus, eine vollkommene Erklärung der Entstehung von unter gewöhnlichen Verhältnissen gewachsenen Schläuchen zu geben. Zwar besaßen die auf Seite 382 geschilderten, von Bacterium f und p in Marxenbirnsaft gebildeten eine ähnlich beschaffene Haut und waren, soweit darauf geachtet wurde, ebenfalls von Gerinnsel umgeben, so daß hier die Wachstumserscheinungen wahrscheinlich gleiche waren; allein bei den gewöhnlich angetroffenen, auf Seite 381 beschriebenen und in Fig. 19 und 20 abgebildeten Schläuchen zeigte die Membran eine ganz andere Beschaffenheit. Sie war innen und außen durchaus glatt und im Innern homogen, so daß nirgends Lücken oder Ansatzstellen oder Ungleichheiten zu beobachten waren, sie glichen vollkommen einer Blasenhaut. Ihr Wachstum wird daher voraussichtlich in anderer Weise stattfinden, als es soeben für die nach Wasserzusatz rasch entstandenen Schläuche beschrieben wurde. Zwar könnte man sich vorstellen, die bei unveränderter Konzentration jedenfalls sehr langsame Entwickelung ermögliche eine gleichmäßigere Anlagerung neuer Teile an der Mündung des offenen Schlauches; allein die Befunde sprechen eher gegen eine solche Uebereinstimmung in der Entstehungsart. So waren jene glatten, zum Teil schraubenförmig aufgerollten Schläuche gewöhnlich nicht von einem Gerinnsel umgeben, und ferner könnte man sich nicht recht vorstellen, wie die öfters vorkommende und in Fig. 20 abgebildete Bakteriengruppe in das Endstück des Schlauches gelangen konnte. Ich hoffe nach Fortsetzung der Untersuchung auch über diesen Punkt Aufschluß geben zu können. Als wertvolles Ergebnis dieser direkten Beobachtung der Schlauchbildung darf der dadurch erbrachte Nachweis betrachtet werden, daß im Innern der Blasen eine Substanz in gelöster Form sich vorfindet, die zur Bildung einer festen Membran geeignet ist.

Das Verhalten des Blaseninhaltes während des Wachstums der Blasen kann hier kurz behandelt werden, da das Wesentlichste über die Veränderung der Bakterien während dieses Vorganges schon auf Seite 361 mitgeteilt wurde. Die außer den Bakterien in den Blasen befindlichen Substanzen werden der Permeabilität der Membran entsprechend je nach dem umgebenden Medium verschieden sein. Vor allem wichtig ist die gallertartige Kittsubstanz, die beim Zustandekommen der Zooglöen mitwirkt und deren Zusammenhalt ermöglicht. Während des Wachstums der Zooglöen nimmt nicht nur die Zahl der Bakterien zu, sondern auch die Menge dieser von den verschiedenen Bakterien ausgeschiedenen Kittsubstanz. In vorgerückteren Stadien, nachdem sich die Zooglöe zur Blase verwandelte, wird sie dann früher oder später verflüssigt, voraussichtlich durch ein von den Bakterien ausgeschiedenes Enzym; die letzteren werden frei und finden sich nun in einem flüssigen Medium. Ob die verflüssigte Kittsubstanz zum Aufbau der Haut und der Schläuche dienen kann oder ob hierzu andere von den Bakterien gebildete Stoffe verwendet werden, muß vorläufig unentschieden bleiben. Ebenso ist noch festzustellen, welche Inhaltsstoffe der Blase osmotisch

wirken. Das Vorhandensein gewisser, mit Gerbstoff ausfällbarer, möglicherweise osmotisch wirksamer Substanzen wird bewiesen durch das Zustandekommen des Gerinnsels bei der Schlauchbildung. Sodann kommt in dieser Hinsicht jene Substanz in Betracht, die beim Wachstum der Blasen und beim Entstehen von Schläuchen als Baustoff der Haut dient. Daß dieser letztere Stoff in den Blasen in gelöster Form sich findet, war vorauszusehen und konnte zudem beim Entstehen der Schläuche direkt beobachtet werden. Milchsäure und Mannit sind wichtige Stoffwechselprodukte der betreffenden Bakterien im freilebenden Zustande und können wohl auch innerhalb der Blasen gebildet werden und dann osmotisch wirken. Während aber die vorerwähnten Stoffe voraussichtlich nicht durch die Blasenhaut austreten, wird dies bei den letztgenannten wohl der Fall sein, und diese werden also für das Zustandekommen einer osmotischen Spannung, des Turgors der Blase, nur in Betracht kommen, solange die Bakterien tätig sind, und sie im Innern der Blase immer aufs neue erzeugen. Daß der Inhalt der Blasen sauer reagiert, also freie Säuren enthält, wurde direkt nachgewiesen.

V. Die Bedeutung der Bakterienblasen.

Um sich darüber klar zu werden, welche biologische Bedeutung der Blasenbildung für die betreffenden Bakterien zukommt, wird man zunächst deren weiteres Schicksal verfolgen müssen. Entstehen bei der spontanen Gärung von Obstweinen in Gärflaschen Bakterienblasen, so können sie jahrelang intakt erhalten werden, wenn man die Flüssigkeit vor starker Bewegung schützt. Wir haben zu wiederholten Malen versucht, aus solchen mehrere Jahre alten Blasen die Bakterien weiterzuzüchten, stets ohne Erfolg; sie waren tot. Ein freies Auswandern der Bakterien aus der Blase heraus, ähnlich wie es W. Zopf[1]) bei den Zooglöen von Cladothrix schildert, konnte direkt nicht beobachtet werden; dagegen fanden sich öfters in den Truben von Obstwein entleerte Blasen in größerer Zahl, ohne daß sich Spuren einer mechanischen Verletzung hätten feststellen lassen. Immerhin muß noch unentschieden bleiben, ob es den Bakterien selbst gelingt, sich einen Ausgang aus den Blasen zu verschaffen. Da sie keine Eigenbewegung besitzen, ist dies nicht sehr wahrscheinlich, in manchen Fällen, wo die Bakterien eine zusammenhängende, verfilzte Masse bilden (Seite 364), geradezu ausgeschlossen. Es sind jedoch andere Möglichkeiten gegeben, wie die Bakterien ins Freie gelangen; so werden bei starken Bewegungen des Trubs die Blasen leicht zerrissen und ferner siedeln sich auf der Außenseite der Blasenhaut gelegentlich andere Organismen, Sproßpilze und Bakterien an, die eine Lockerung derselben herbeiführen können.

Sowohl die Vereinigung zu Zooglöen als auch die Umhüllung mit einer Membran bei der Blasenbildung bietet ohne Zweifel den betreffenden Bakterien gewisse Vorteile, es sind Mittel zur Selbsterhaltung. Die Kampfstoffe, welche von den Bakterien gegenüber anderen, im gleichen Medium lebenden Organismen verwendet werden, kommen intensiver zur Geltung, wenn sie nicht von einzelnen zerstreuten Individuen in naturgemäß nur geringen Mengen gebildet werden, sondern wenn eine große Zahl von Bakterien sich vereinigt und mit konzentrierteren Mitteln auf die benachbarten, direkt in Betracht kommenden Organismen einwirkt. Ueberall, wo Zooglöenbildung iu der Natur auftritt, wird dieser

1) Zur Morphologie der Spaltpflanzen. Leipzig 1882. p. 15.

Grundsatz zur Geltung gelangen. In zweiter Linie genießen die zu Zooglöen vereinigten Spaltpilze auch eines erhöhten Schutzes gegenüber den von anderen Organismen gebildeten Kampfstoffen, einmal deshalb, weil sich deren Einwirkung auf eine große Zahl von Bakterien verteilt, ferner durch ihre Schleimhülle, und sodann dadurch, daß die Schädigungen nicht allseitig wie bei vereinzelten Bakterien einwirken können und bei den im Innern einer Zooglöe befindlichen überhaupt nur in abgeschwächtem Grade zur Geltung gelangen. Die Bildung einer festen, gewisse diosmotische Eigenschaften besitzenden Membran, wie es bei den Blasenbakterien der Fall ist, kann diesen Schutz noch beträchtlich erhöhen. Es ist wohl denkbar, daß gewisse, zu den Eiweißderivaten gehörige Kampfstoffe gar nicht in die Blase einzudringen vermögen. Für die hauptsächlichsten Kampfstoffe der blasenbildenden Bakterien, selbst für Milchsäure und Essigsäure, ist dagegen die Blasenmembran durchlässig. Für unsere in Obst- und Traubenweinen lebenden Bakterien bietet die Vereinigung zu Zooglöen und die Blasenbildung noch einen dritten Vorteil, nämlich einen gewissen Schutz gegen die organischen Säuren und den Gerbstoff des Mediums. Von letzterem ist wohl anzunehmen, daß er in die Zooglöen und besonders in die Blasen nicht einzudringen vermag. Darauf weisen schon die Erscheinungen bei der Schlauchbildung hin. Apfelsäure aber wird von den betreffenden Bakterien rasch zersetzt und findet sich daher, solange diese leben, innerhalb der Blasen kaum oder sicher nur in geringer Konzentration.

Für Bakterien, die auf festem Substrat leben, bietet die Zooglöen- und Blasenbildung auch einen gewissen Schutz gegen rasches Austrocknen, wie wohl aus folgendem Versuche geschlossen werden darf. In mit Wattestopfen verschlossenen Flaschen mit sterilisiertem Obstsaft, dem man eine Reinhefe und das reingezüchtete Bacterium f zugesetzt hatte, bildeten sich nach Abschluß der Gärung an der Flaschenwand Bakterienblasen. Einige dieser Flaschen blieben über ein Jahr stehen, die Flüssigkeit war nun größtenteils verdunstet; allein die über der Oberfläche an der Wand sitzenden Blasen waren weich wie kleine Schleimtröpfchen. Beim Verbringen in Wasser dehnten sie sich aus und erlangten wieder Kugelgestalt. Ob die darin befindlichen Bakterien unter solchen Umständen länger am Leben bleiben als isolierte, wurde allerdings nicht direkt festgestellt, erscheint aber sehr wahrscheinlich. Nur nebenbei möge hier noch erwähnt sein, daß, wenn man einen Obstwein mit Blasen auf einer Uhrschale eintrocknen läßt, so daß die Blasen eingeschrumpft und als solche nicht mehr zu erkennen sind, und hierauf etwas Wasser zufügt, die Blasen wieder die ursprüngliche Form erlangen, und daß man dieses Spiel mit den gleichen Blasen mehrmals wiederholen kann.

Mögen nun auch die blasenbildenden Bakterien in unvergorenen und vergorenen Obstsäften noch so verbreitet sein und zumal in den Birnweinen oft in enormer Zahl sich vorfinden, so ist dies eben doch nicht ihr natürlicher Standort, und man wird fragen, wie sie sich dort verhalten, wo sie ohne menschliches Zutun ihre Existenzbedingungen finden, ob sie ebenfalls Zooglöen und Blasen bilden. In die Obstweine gelangen die betreffenden Bakterien durch die Früchte, auf denen sie im Herbst in mehr oder weniger großer Zahl vorkommen. Besonders verletzte und teige Birnen sind ziemlich sichere Fundstätten. Auf die Früchte werden sie, wie die Hefepilze, durch Wind und Insekten gelangen; welches aber ihr Substrat am Boden ist, wird schwierig festzustellen sein. Sie ge-

hören in die große Gruppe der Milchsäurefermente, die sich so ziemlich überall finden, wo Pflanzenstoffe in Zersetzung begriffen sind. Vorausgesetzt darf wohl werden, daß eines der regelmäßigen natürlichen Vorkommnisse die abgefallenen und dabei meist verletzten, unter den Bäumen liegenden Früchte sind. Ueberreife und teige, zerfallene Birnen sind in der Tat reichlich mit derartigen Bakterien besetzt und bei ihrer Verarbeitung erhält man, zumal bei warmer Witterung, Säfte, die schon vor Abschluß der eigentlichen Gärung den entstehenden Milchsäurestich erkennen lassen. Zooglöen oder gar Bakterienblasen konnten wir jedoch auf solchen Birnen nicht finden. Auf Birnstücken, die sterilisiert und dann, mit Bacterium f infiziert, in feuchter Luft aufbewahrt wurden, vermehrten sie sich und bildeten auch Zooglöen; zur Blasenbildung kam es, wie übrigens zu erwarten stand, nicht, dazu bedürfe es wohl eines mehr flüssigen Substrates. Zu einem abschließenden Urteil darüber, ob diese Bakterien auch in der freien Natur zur Blasenbildung gelangen, haben die wenigen Versuche nicht geführt. Auf alle Fälle sind die Bakterienblasen eine interessante Naturerscheinung, die eine weitere Erforschung verdient. Möglich, daß eine solche auch unsere Einsicht in das Wachstum von eigentlichen Zellmembranen fördern kann.

VI. Zur Systematik, Morphologie und Physiologie der blasenbildenden Bakterien.

Welche Arten von Bakterien zur Blasenbildung befähigt sind, ist durch unsere Untersuchung nur teilweise entschieden. Zum voraus möge hervorgehoben sein, daß sie auf keinen Fall, wie man etwa aus einer äußeren Aehnlichkeit der Blasen mit den Fruchtkörpern einiger Myxobakterien schließen könnte, zu letzteren gehören; denn abgesehen davon, daß die blasenbildenden Bakterien keine beweglichen Kolonieen, kriechende Schwärme bilden, zeigen auch die Vorgänge bei der Entstehung von Zooglöen und Blasen keinerlei Uebereinstimmung mit der Fruchtkörperbildung der Myxobakterien. Nur darin herrscht Aehnlichkeit, daß bei beiden Organismengruppen eigenartige, mit einer Membran umgebene Bakterienansammlungen entstehen, zu deren Bildung man früher die Bakterien nicht für fähig gehalten hätte.

Diejenigen unter den reingezüchteten blasenbildenden Bakterien, die wir auch in biologischer Hinsicht genauer untersuchten, gehören zu den Milchsäurebakterien, und zwar zu denjenigen, die Lävulose unter Mannitbildung zersetzen.

Es mögen zunächst einige Versuche geschildert werden, die zur Gewinnung und Charakterisierung der blasenbildenden Bakterien durchgeführt wurden.

Aus einem spontan vergorenen 1902er Teilersbirnwein wurde im März 1903 eine kleine Blase mit gleichartigen stäbchenförmigen Bakterien isoliert und damit eine Reinkultur gewonnen. Für solche Zwecke hat sich eine Mostgelatine gut bewährt, die aus einer 7-proz. Gelatine hergestellt wurde, indem man ihr 10 Proz. Saft von überreifen, kernteigen, also säure- und gerbstoffarmen Teilersbirnen zufügte. Diese Bakterie bezeichnete man als a. Ebenso wurde mit einer bedeutend größeren Blase mit Stäbchenbakterien aus dem gleichen Obstweine verfahren; die daraus gezüchtete Bakterie erhielt die Bezeichnung b. Zwei weitere Bakterien, c und d, wurden gezüchtet, indem man von einer Blase ausging, die einem spontan vergorenen 1902er Reinholzbirnwein entnommen

war und eine immense Zahl kokken- und diplokokkenartiger Bakterien von ca. 1 μ Durchmesser enthielt, während an ihrer Oberfläche einige Flöckchen zarter Fadenbakterien hafteten. Mit diesen 4 Spaltpilzen wurde nun folgender Versuch durchgeführt:

Mit 6 verschiedenen, steril aufbewahrten, unvergorenen Obstsäften, nämlich von Wasserbirnen, Teilersbirnen, Schellerbirnen, Reinholzbirnen, Marxenbirnen und Fischbächlerbirnen, wurden je 32 kleine Flaschen gefüllt. Von diesen 32 Flaschen waren dann jeweils 8 für jede der 4 Bakterien bestimmt. 2 Flaschen wurden mit der zu Sacch. Pastorianus gehörigen Reinhefe Wädenswil 4 und der Bakterie a infiziert und mit Gärverschluß versehen, 2 Flaschen ebenso infiziert und mit Wattestopfen verschlossen, 2 weitere Flaschen nur mit Bacterium a infiziert und mit Korkstopfen verschlossen und 2 ebenfalls mit Bacterium a infizierte mit Watteverschluß versehen. — Ebenso wurde mit den Bakterien b, c und d verfahren, und zwar bei jedem der 6 Birnenmoste; die 192 Flaschen kamen in einen Dunkelschrank in einem kühlen Zimmer mit anfänglich 13° und gegen den Sommer hin 17° C zu stehen.

Am 8. April wurden die verschiedenen Moste infiziert und von Zeit zu Zeit unter den erforderlichen Vorsichtsmaßregeln, um Fremdinfektion zu vermeiden, Proben zur Untersuchung entnommen. Die Resultate waren, in Kürze mitgeteilt, folgende:

In einem der Obstsäfte, nämlich in Fischbächlerbirnmost, konnten sich die Bakterien nicht entwickeln. Im Wasserbirnmost fand sich am 27. Mai in den Flaschen mit Bacterium a mit Korkstopfen und Watteverschluß eine flockige Schicht von Bakterien sowohl am Boden der Flasche als auch an einer Seitenwand. Bei der am 23. Juni vorgenommenen Untersuchung erschienen die die Flocken bildenden langen Fäden zum Teil deutlich in Kurzstäbchen geteilt (Fig. 82). Neben den Flocken fanden sich noch zahlreiche Zooglöen von kugeliger Gestalt und ferner von der Kugelgestalt abweichende, immerhin abgerundete, kompakte Bakterienmassen. Alle diese Zooglöen waren noch ohne Haut. Beim Zerdrücken flossen die Kurzstäbchen nicht in die umgebende Flüssigkeit aus, sie waren also noch verkittet. In den Flaschen, wo Bacterium a mit Hefe ausgesät war, fanden sich am 27. Mai nach ziemlich abgeschlossener Gärung bei Watteverschluß neben der Hefe sehr viele fadenförmige, in Kurzstäbchen eingeteilte Bakterien, bei den mit Gärverschluß versehenen Flaschen nur einzelne Stäbchen. Eine am 26. Februar 1904 vorgenommene Untersuchung ergab einen ähnlichen Befund, wie die am 23. Juni ausgeführte; nur hatte in den Flaschen mit Bacterium a ein Teil der Zooglöen mit der Hautbildung begonnen, die Bakterien hingen noch fest mit der Haut zusammen. Einige Zooglöen hatten kürzere Schläuche gebildet. Wo Bakterium a neben Hefe sich befand, hatten sich die Bakterien vermehrt; die Einteilung in Kurzstäbchen war hier sehr deutlich. Die kürzesten Stäbchen waren 1,5 μ lang und 1,1 μ dick.

Im Teilersbirnsaft hatten sich die Bakterien a ebenfalls bis zum 24. Juni schon beträchtlich vermehrt, allein es fanden sich nur lange, aus kurzen Gliedern bestehende Fäden, dagegen keine Zooglöen. Dies änderte sich auch nicht bis zum 4. Februar 1904. Der bei diesem Versuch verwendete Teilersbirnsaft erwies sich also für die Bildung von Zooglöen und Blasen nicht geeignet. Die Bakterien selbst zeigten in diesem Saft geringere Dicke, die kürzesten Glieder waren 1,5 μ lang und 0,8 μ dick. Bei Gegenwart von Hefe war die Vermehrung der

Bakterien beträchtlich geringer als ohne diese und noch geringer als in Wasserbirnmost.

Im Schellerbirnsaft war am 24. Juni ein Wachstum der Bakterien noch nicht nachzuweisen; er erwies sich also hierfür weniger geeignet. Bis zum 16. Februar 1904 hatten sich die Bakterien nur in der Flasche ohne Hefe vermehrt. Flocken oder Rasen von freilebenden Bakterien fanden sich nicht, sondern nur runde Zooglöen und einzelne deutlich ausgebildete Blasen, die teils dem Boden, teils der Flaschenwand aufsaßen. Diese Blasen und wohl auch mit fester Außenschicht versehenen Zooglöen hatten größtenteils lange, unregelmäßig gekrümmte Schläuche gebildet (Fig. 18).

Im Reinholzbirnsaft hatte Bacterium a am 24. Juni eine ansehnliche Zahl von Zooglöen verschiedener Größe (bis 1 mm Durchmesser) gebildet. Zu dieser Zeit besaßen diese noch keine deutlich abgegrenzte, sich lösende Haut. Immerhin war die äußere Schicht der die Grundsubstanz der Zooglöe bildenden Gallerte schon etwas differenziert. Beim Zerdrücken lösten sich keine Bakterien los, die Zwischensubstanz war also noch nicht verflüssigt. Neben den einfachen kugelförmigen Zooglöen fanden sich auch traubenartig zusammengesetzte, d. h. aus einer größeren Zahl kleinerer gebildete Zooglöen, ähnlich Fig. 76 auf Taf. III. Neben diesen Zooglöen waren hier auch freie Bakterien, teils als Kurzstäbchen, teils in Form gegliederter Fäden vorhanden. Am 23. Februar 1904 fanden sich in den mit Bacterium a allein infizierten Flaschen zahlreiche deutlich ausgebildete Blasen mit Schläuchen, wie sie auch beim Schellerbirnmost erwähnt und auf Seite 382 beschrieben wurden. In diesen Blasen bildeten die Bakterien eine verfilzte Masse, von der sich aber beim Oeffnen kürzere und längere Fäden abtrennten. Die längeren erschienen nur zum Teil gegliedert. Die Kurzstäbchen waren 1,5 μ lang und 0,8 μ dick.

In Gegenwart von Hefe Wädenswil vermochte Bacterium a ziemlich viel Kurzstäbchen, jedoch keine Zooglöen und Blasen zu bilden.

In Marxenbirnsaft mit Bacterium a fanden sich schon am 27. Mai Zooglöen und Blasen, letztere etwa vom Aussehen von Fig. 9. Eine derselben hatte z. B. einen Durchmesser von 352 μ, andere einen solchen bis zu 1 mm. Der Inhalt der Blasen bestand aus verfilzten Bakterien, Stäbchen und Fäden. Meist fand sich in der Mitte der Blase ein größerer Bakterienknäuel, umgeben von einer hellen Flüssigkeit. Vom Knäuel aus erstreckten sich strahlig aus Bakterien gebildete Fortsätze nach der Blasenhaut hin. Die Bakterien in den Blasen waren teils gegliederte, teils ungegliederte Fäden oder Langstäbe, sowie Kurzstäbe. Die kürzesten Stäbe und Glieder waren 1,5 μ lang und 0,8 μ dick. Solche Fäden und Lang- sowie Kurzstäbe fanden sich auch außerhalb der Blasen.

Bis zum 6. Februar 1904 hatte sich die Zahl der Blasen vermehrt. Sie saßen am Boden und an der Flaschenwand. Wie schon früher für einen anderen Fall erwähnt wurde, waren sie auch hier auf eine Seite lokalisiert, und zwar auf die dem wärmeren Zimmerraum zugewendete. Da die Bakterien keine selbständige Bewegungsfähigkeit besitzen, sind wahrscheinlich Flüssigkeitsströmungen die Ursache dieser einseitigen Plazierung. Suchte man solche Blasen von der Wand zu trennen, so war dies in unverletztem Zustande nicht möglich; die Haut war zu fest mit dem Glas verwachsen, auf der Glasseite vielleicht gar nicht ausgebildet. Auch hier bestand der Inhalt aus verfilzten Bakterienmassen.

Wo die Bakterie a nebst Hefe ausgesät worden war, kam sie bei Anwendung eines Gärverschlusses nicht zur Entwickelung, wohl aber in den nur mit Wattestopfen verschlossenen Flaschen. Hier hatten sich bis zum 6. Februar 1904 zahlreiche Zooglöengruppen gebildet, bei denen ein Teil der Zooglöen zur Hautbildung geschritten war. Die im Innern befindlichen Bakterien, kürzere und längere Stäbchen, waren nicht verfilzt. Neben diesen Zooglöen und Blasen fanden sich faden- und stabförmige Bakterien, zum Teil lange, verschlungene Fäden.

Bacterium b zeigte in Wasserbirnsaft im ganzen das gleiche Verhalten wie a, nur war die Entwickelung spärlicher; vielleicht rührt dies daher, weil die zur Aussaat verwendete Gelatinekolonie älter war. In Teilersbirnsaft verhielt sich die Bakterie b genau wie a; teils bildeten sie Kurzstäbchen, teils in solche gegliederte Fäden, die in der Dicke von 0,8—1,1 μ variierten, während die Länge der Kurzstäbe wie bei a 1,5 μ betrug. In Schellerbirnsaft, wo schon a zur Entwickelung längere Zeit als in den anderen Säften bedurfte, vermochte sich b gar nicht zu vermehren. In Reinholzbirnmost zeigte die Bakterie b ein ähnliches Verhalten wie a, jedoch wiesen die Blasen keine Schläuche auf. Während Bakterie a im Marxenbirnsaft schon am 24. Juni Blasen gebildet hatte, war bei b zu dieser Zeit noch keine Vermehrung zu beobachten. Bis zum 6. Februar 1904 schritt aber auch b zur Zooglöen- und Blasenbildung, und zwar nur in den mit Korkstopfen verschlossenen Flaschen. Neben den Zooglöen und Blasen wurden wiederum abweichend von a keine freien Bakterien bemerkt. Mit Hefe zusammen ausgesät, vermochte sich Bacterium b in diesem Safte gar nicht zu entwickeln, abweichend von a, das darin Zooglöen, Blasen und freie Bakterien gebildet hatte.

Auf Grund der gemachten Beobachtungen glauben wir die aus verschieden großen Blasen stammenden Bakterien a und b doch als identisch betrachten zu müssen. Die angeführten Verschiedenheiten können, wie schon angedeutet wurde, der ungleichen Lebensenergie des aus verschieden alten Gelatinekulturen stammenden Aussaatmaterials zugeschrieben werden.

Bacterium c entwickelte in Wasserbirnsaft schon bis zum 27. Mai eine Menge von diplokokkenartigen Kurzstäbchen und Tetraden, die am Boden ein feines, staubartiges Depot bildeten (Fig. 85). Dieser Sachverhalt änderte sich bis 26. Februar 1904 nicht weiter. Es wurden im Gegensatz zu a und b weder Zooglöen noch Blasen, noch fadenartige Bakterien gebildet. Dasselbe war der Fall, wo c mit Hefe zusammenlebte. Im Teilersbirnsaft war das Verhalten ein gleiches.

Im Schellerbirnsaft fanden sich am 16. Februar 1904 große, bis 1,6 mm Durchmesser aufweisende Gruppen von Zooglöen, oft aus vielen Hunderten solcher bestehend, die bei geringem Druck auseinanderwichen. Manche dieser Zooglöen hatten sich schon mit einer Haut umgeben, besaßen aber zum Teil noch unregelmäßige Form, während andere sich schon zu runden Blasen verwandelt hatten. Ihr Inhalt bestand aus kokken- und diplokokkenartigen Kurzstäbchen. Bei Gegenwart von Hefe sind zwar die Bakterien gewachsen, sie hatten aber weder Zooglöen, noch Blasen gebildet.

In Reinholzbirnsaft fanden sich am 29. Mai 1903 gruppenförmig vereinigte, unregelmäßig gestaltete, brockenartig erscheinende Bakterien, eine Art Kokken. Zooglöen und Blasen wurden hier nicht gebildet. Bei Anwesenheit der Hefe sind die Bakterien in diesem Birn-

saft nicht gewachsen. Auch im Marxenbirnsaft hatten sich bis zum 29. Mai jene Anhäufungen unregelmäßig brockenartig gestalteter Bakterien gebildet. Bis zum 6. Februar 1904 waren aber auch Zooglöenhaufen, wenn auch nicht in sehr großer Zahl, entstanden. In diesen Zooglöen fanden sich diplokokkenartige Bakterien von 1,5 μ Länge und 0,6--0,7 μ Dicke und Tetraden. Auch hier wuchsen die Bakterien in Gegenwart von Hefe nicht.

Bacterium d zeigte in Wasserbirnsaft und Teilersbirnsaft ein von c abweichendes, aber auch mit a und b nicht übereinstimmendes Verhalten. Es bildete sich eine Menge Kurzstäbchen, dünner und kürzer als diejenigen von a und b. In Schellerbirnmost hatten sich zahlreiche, an der Flaschenwand sitzende Blasen gebildet, die äußerlich mit den nachfolgend beschriebenen in Marxenbirnmost übereinstimmten. Im Innern dieser Blasen fanden sich sehr zarte Bakterien von nur etwa 0,4 μ Durchmesser, teils in Form von Kurzstäbchen, teils in langen gegliederten Fäden (Fig. 83). Auch in Gegenwart von Hefe hatte sich d etwas entwickelt, jedoch hier weder Zooglöen, noch Blasen gebildet; die sehr zarten Kurzstäbchen waren vielfach zu fein zerknitterten, eng gegliederten Fäden vereinigt. In Reinholzbirnsaft wuchs d sowohl mit als ohne Hefe, bildete keine Zooglöen, dagegen zahlreiche zarte Stäbe von 0,5—0,6 μ Dicke und verschiedener Länge, die längeren gegliedert. Die freilebenden Bakterien waren also etwas kräftiger als die in Blasen eingeschlossenen, was auch bei den anderen Bakterien mehrmals beobachtet wurde. In Marxenbirnsaft waren schon am 29. Mai Blasen vorhanden, deren Zahl bis zum Februar 1904 noch zunahm. Es fanden sich jetzt Blasen mit einem Durchmesser bis zu 300 μ; sie enthielten zarte Kurzstäbchen und aus solchen zusammengesetzte Fäden. Auch in Gegenwart von Hefe vermochte die Bakterie d zu wachsen, sie bildete feine, diplokokkenartig aussehende Kurzstäbchen.

Aus den vorstehend mitgeteilten Beobachtungen geht hervor, daß alle 4 Bakterien zur Blasenbildung befähigt sind, was bei a, b und c, die aus Blasen stammen, zu erwarten war. Aber auch d, das wohl von den feinen, der Blase anhaftenden Fadenbakterien abstammte, bildete sowohl in Scheller- als im Marxenbirnmost Blasen. Die Bakterien a und b können als identisch angesehen werden, während c und d unter sich und von jenen verschieden sind.

Eine zweite Versuchsreihe bezweckte nun, weitere blasenbildende Bakterien zu gewinnen und sie dann mit den schon untersuchten zu vergleichen.

In einem spontan vergorenen 1903er Wasserbirnwein hatten sich oben auf dem Trub weiße, große Flocken von Bakterien gebildet. Diese von mir [1]) schon früher als Erreger des Milchsäurestiches erkannten Spaltpilze zeigten sich teils als ungeteilte, teils als gegliederte, kräftig ausgebildete Fäden. Es schien nun von großem Interesse, festzustellen, ob diese „Milchsäurebakterien" ebenfalls im stande seien, Blasen zu bilden und wie weit sie mit den schon als blasenbildend erkannten Bakterien übereinstimmten. Es wurde am 11. Februar 1904 aus dem Innern einer der erwähnten, ca. 3 cm Durchmesser zeigenden Bakterienflocken sorg-

1) Müller-Thurgau, H., Der Milchsäurestich der Obst- und Traubenweine. VI. (Jahresber. d. Versuchsstation u. Schule f. Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil f. 1895/96. p. 49.)

fältig eine Probe entnommen, die dann zur Herstellung einer Reinkultur mit Teilersbirngelatine nach bekannten bakteriologischen Methoden diente; die so gezüchtete Bakterie erhielt die Bezeichnung f. Sodann wurde noch eine Bakterie g aus einer Blase gewonnen, die in einem spontan vergorenen Teilersbirnwein entstanden war, und zwar erst nachdem der Trub sich vollständig abgesetzt hatte und der Wein absolut hell geworden war. Innerhalb der auf dem Trub nachträglich entstandenen Bakterienflocken waren Blasen entstanden und die in einer derselben kräftig entwickelten Stäbchenbakterien dienten als Ausgangsmaterial für die Reinzüchtung von Bacterium g. Aehnlich wie im vorigen Versuche, wurde nun das Verhalten dieser 2 Bakterien und der zum Vergleich herangezogenen Bakterie a in verschiedenen Birnsäften untersucht, und zwar kamen diesmal zur Verwendung: Wasserbirnsaft von 1903, Reinholzbirnsaft von 1901, Marxenbirnsaft von 1903 und Schellerbirnsaft von 1901. In diese gleichzeitig filtrierten und sterilisierten Säfte wurden die aus Gelatinekolonieen entnommenen Bakterien zu verschiedener Zeit ausgesät, nämlich f am 3. März, a und g am 24. März. Die Flaschen kamen in einen Schrank bei Zimmertemperatur zu stehen. Die Fläschchen waren teils mit Wattestopfen, teils mit Korkstopfen oder mit Gärverschluß versehen, um den Einfluß verschiedenen Luftzutrittes festzustellen. Da sich hier keine bemerkenswerten Unterschiede zeigten, wurde bei der nachfolgenden Zusammenstellung der Ergebnisse darauf meist keine Rücksicht genommen.

Bacterium a hatte im Wasserbirnsaft schon am 30. März, also nach 6 Tagen, Zooglöen gebildet, am 15. April fanden sich zahlreiche schön ausgebildete Zooglöengruppen und auch einzelne Blasen, zum Teil mit kurzen hornartigen Auswüchsen, Schläuchen versehen. Auch im Reinholzbirnsaft fanden sich am 30. März Zooglöen, die sich aber bis zum 15. April nicht so weit entwickelten wie im Wasserbirnsaft. Später entstanden aber doch Blasen, wenn auch nur kleine. In Schellerbirn- und Marxenbirnsaft hatten sich die Bakterien bis zum 15. April nicht sichtlich zu entwickeln vermocht. Später bildete a auch hier Blasen, und zwar im Schellerbirnsaft solche mit langen Schläuchen, im Marxenbirnsaft solche ohne derartige Auswüchse.

Bakterie f zeigte am 14. März, also nach 11 Tagen, im Wasserbirnsaft ebenfalls eine starke Entwickelung. Neben langen fadenartigen Bakterien fanden sich auch hier zahlreiche Zooglöen; am 18. März war der Inhalt der Zooglöen schon verändert; die ursprünglich noch erkennbaren Fäden erschienen zu einer mehr gleichmäßigen Masse verschmolzen. Am 14. April ließ sich eine Blasenhaut noch nicht sicher feststellen, dagegen waren schon kurze Schläuche, eine Art Hörner, entstanden. Später fanden sich auch in diesem Safte vollkommen ausgebildete Blasen. In Reinholzbirnmost war das Verhalten ähnlich wie im Wasserbirnmost, die Zooglöen-bildenden Bakterienfäden blieben hier lange erhalten, so noch bis zum 18. März (Fig. 33). Am 22. März hatte sich die fädige Struktur der Zooglöen aber ebenfalls verändert. Es war eine kompakte Masse entstanden, bei der deutliche Fäden nicht mehr unterschieden werden konnten. Am 14. April besaßen diese Zooglöen noch keine deutlich differenzierte Haut, aber schon deutliche Hörner. Erst im weiteren Verlaufe erhielten auch hier die Zooglöen Membranen.

Wie bei a, fand auch bei f im Schellerbirn- und Marxenbirnsaft bis zum 14. April keine merkliche Vermehrung statt. Erst im Ver-

laufe einiger Monate entstanden auch in diesen Säften Blasen, und zwar im Schellerbirnsaft solche mit langen, unregelmäßigen Schläuchen von großer Mächtigkeit, bis zu 0,5 mm Durchmesser, im Marxenbirnmost große Blasen von 1 mm und mehr Durchmesser. Daß die Bakterien a und f in diesem Moste auch in Gegenwart von Hefe Blasen zu bilden vermögen, beweist ein anderer Versuch, der angestellt wurde, um den Stoffwechsel dieser Bakterien kennen zu lernen.

Die Entwickelung von Bacterium g stimmte in allen Säften so vollständig mit derjenigen von f überein, daß eine detaillierte Schilderung unterbleiben kann.

Noch mögen kurz die Maße dieser 3 Bakterien angeführt sein: Bacterium a zeigte in den verschiedenen Mosten eine Dicke von 0,8 μ, gelegentlich stieg sie bis 1,15 μ. Die Länge war äußerst verschieden; neben sehr langen ungegliederten Fäden fanden sich viele kürzere von 20—50 μ, während die kürzesten Glieder von geteilten Fäden oder die kleinsten Kurzstäbchen 1,6 maßen. Bei f ergaben sich die gleichen Größen und ebenso bei g.

Soweit diese Versuchsreihe erkennen läßt, sind die Bakterien f und g identisch und stimmen auch mit a vollständig überein. Kleine Verschiedenheiten bezüglich der Form der Zooglöen, der Zeit der Blasenbildung, Größe der gebildeten Blasen etc. dürften höchstens zur Einreihung in verschiedene Rassen berechtigen; wir möchten aber auch hiervon absehen mit Rücksicht darauf, daß diese Erscheinungen durch äußere Faktoren stark beeinflußt werden. Besonderes Interesse bietet der Nachweis, daß nicht nur die aus Blasen gewonnenen Bakterien Blasen bildeten, sondern auch die Milchsäurebakterie f, die sich in Form von Flocken in einem milchsäurestichigen Obstweine vorgefunden hatte.

Um vielleicht noch blasenbildende Bakterien anderer Art zu finden, wurde folgender Versuch durchgeführt. Eine große runde Blase von 2 mm Durchmesser aus einem in einer Flasche vergorenen Schellerbirnwein wurde als Ausgangsmaterial benutzt. Die in dieser Blase enthaltenen, beim Anstechen in einem dichten Strom ausfließenden Bakterien erschienen als kräftige, scharf konturierte Stäbchen von 0,8 μ Dicke und 2—9 μ Länge. Durch Aussaat in Nährgelatine wurde eine Reinkultur hergestellt und die Bakterie als h bezeichnet. Eine weitere Bakterie (i) lieferte ein im Faß vergorener Schellerbirnwein. In dem diesem Weine entnommenen Trub fanden sich verhältnismäßig wenig Blasen. Nach längerem Stehen in Flaschen waren aber auf dem Trub deren eine große Anzahl entstanden, und zwar in schöner Ausbildung. Die meisten, und darunter alle größeren, hatten birnförmige Gestalt. Einzelne enthielten stäbchenförmige, die meisten aber kokken- oder diplokokkenartige Bakterien. Im letzteren Falle beobachtete man dann stets auch Merismopedientäfelchen, bestehend aus vier in quadratischer Anordnung nebeneinander liegenden runden Bakterien. Der Inhalt einer solchen Blase wurde nun zur Ausführung einer Reinkultur benutzt. Sowohl bei h als i benutzte man hierzu eine 7-proz. Gelatine, der 5 Proz. Fleischbouillon und eine solche, der 5 Proz. Heuinfus zugefügt worden war. Die Entwickelung der Bakterien fand in beiden Nährgelatinen in übereinstimmender Weise statt. Die Bakterien h bildeten Kolonieen, die ausschließlich aus scharfbegrenzten geraden Stäbchen von 0,8 μ Dicke und 2—40 μ Länge bestanden, während sich in den Kolonieen von i die gleichen Formen wie in der Blase, nämlich kokken- und diplo-

kokkenartige Bakterien, sowie die schon erwähnten Merismopedientäfelchen (Tetraden) vorfanden. Um auch diese beiden offenbar verschiedenen blasenbildenden Bakterien noch näher kennen zu lernen, wurden sie in verschiedene sterilisierte Obstsäfte übertragen, teils allein, teils mit einer Birnweinhefe „Egnach" zusammen, und zwar in die milden Wasserbirn- und Teilersbirnsäfte, sowie in einen aus einem Gemisch spät reifender, an Gerbstoff und Säure reicherer Birnen hergestellten Saft, sogenannten Spätbirnsaft.

Bacterium h entwickelte sich im Wasserbirnsaft reichlich; es fanden sich lange Fäden, zum Teil in kürzere Stücke gegliedert, und daneben zahlreiche Kurzstäbchen von 0,8—1,0 μ Dicke und 1,5—2 μ Länge, also mit den gleichen Ausmaßen wie a und f. Oft waren die Kurzstäbchen zu Klümpchen vereinigt; eigentliche Zooglöen und Blasen fehlten. Das gleiche Verhalten zeigte die Bakterie, wo sie mit der Hefe zusammen war. Auch in Teilersbirnsaft war der Befund ein ähnlicher, nur erreichten die Bakterienfäden eine geringere Länge. Anders dagegen verlief die Entwickelung in Spätbirnsaft; hier entstanden ganze Flocken fadenförmiger Bakterien und daneben zahlreiche Zooglöen und Blasen. In einem Teil der letzteren fanden sich lange verfilzte Fäden, so daß selbst nach gewaltsamem Oeffnen der Blase der Inhalt nicht ausfloß (Fig. 49); in anderen dagegen waren Stäbchen vorhanden von 0,8 μ Dicke und 2—3 μ Länge. Die Dicke der Bakterien war in beiden Arten von Blasen die gleiche und nur der Zerfall in Stücke ungleich vorgeschritten. Die Bakterie h gehört, soweit diese Beobachtungen erkennen lassen, zur gleichen Art wie a und f.

Die Bakterie i zeigte, wie schon ihre Beschaffenheit in den Gelatinekolonieen erwarten ließ, auch in den Obstsäften ein von h abweichendes Verhalten. Im Wasserbirnmost waren, gleichgültig ob die Bakterie allein oder mit Hefe zusammen sich vorfand, nur eine Menge Diplokokken und Tetraden vorhanden (Fig. 85). Im Teilersbirnsaft bildete dagegen die Bakterie i zahlreiche zusammengesetzte Zooglöen, d. h. runde bis länglich runde Vereinigungen von 50, 100 und mehr kleineren aneinander haftenden Zooglöen. Wo Hefe zugesetzt worden war, bestanden diese aus diplokokken- und merispodienartig gruppierten Bakterien, die sich jedoch beim Zerdrücken solcher Zooglöen nicht voneinander lösten; die Kittsubstanz war noch nicht verflüssigt. Wo dagegen die Bakterie sich allein vorfand, besaßen zwar die Zooglöen die gleiche Gestalt, im Innern konnte man aber die Bakterien nicht deutlich wahrnehmen, sie waren wie zu einer fast homogenen Masse verschmolzen. Frei herumschwimmende oder am Boden sitzende Diplokokken fanden sich weder im einen, noch im anderen Falle. Wieder etwas anders war das Verhalten der Bakterie i im Spätbirnsaft. Hier wurden zahlreiche ziemlich große Zooglöen von ca. 250 μ Durchmesser gebildet, auf denen dann ringsherum kleinere, 15—20 μ messende festsaßen. Während an der zentralen größeren Zooglöe eine Haut sich nicht deutlich nachweisen, jedenfalls nicht isolieren ließ, hatte sich ein Teil der kleineren zu Blasen mit deutlich differenzierter Haut ausgebildet. Beim Zerdrücken der größeren Zooglöen trat aus deren Innern ein Strom von Kokken und Diplokokken aus, während diese in der äußeren Schicht im Zusammenhang blieben. Die außen anhaftenden Zooglöen und Blasen enthielten ebenso gestaltete Bakterien. Endlich fanden sich in diesem Birnsafte am Boden der Flasche größere vereinzelte Blasen mit gleichem Inhalt. Die Diplokokken maßen 0,7 μ und etwas weniger in der Dicke und 1,1—1,5 μ in der Länge.

Durch dieses Verhalten unterscheidet sich wesentlich von h; dagegen zeigt es Uebereinstimmung mit e, so daß die 8 im Vorstehenden näher studierten zur Blasenbildung befähigten Bakterien sich in 3 Gruppen bringen lassen, nämlich: a, b, f, g und h, sodann d und drittens e und i. Die ersteren sind im Wuchs kräftiger, sie neigen zur Bildung langer ungeteilter Fäden oder straffer, scharf konturierter Stäbe. Bacterium d ist entschieden zarter; ungeteilte lange Fäden oder Stäbe wurden in keinem Nährmedium beobachtet; meist findet es sich als Kurzstäbchen oder auch als zarte Ketten von solchen. Zooglöen und Blasen bilden in hierzu geeigneten Obstsäften sowohl die Spaltpilze der ersten Gruppe, als auch Bacterium d, nur ist der Blaseninhalt verschieden, bei den ersteren meist kürzere oder längere Stäbe, oder gar lange verschlungene, zum Teil wenig gegliederte Fäden, bei d dagegen öfters kurze Einzelbakterien, seltener enggegliederte feine Fäden. Da die Bakterien der beiden Gruppen sowohl in den gleichbeschaffenen Nährflüssigkeiten als auch in den Kolonieen in Nährgelatine und ferner innerhalb der Blasen abweichende Gestaltung zeigen, sind sie wohl als zwei verschiedene, jedoch verwandte Arten aufzufassen. Bei Zugrundelegung des Bakteriensystems von Lehmann und Neumann[1]) sind sie als nicht sporenbildend der Gattung Bacterium einzuordnen. Auch nach Migulas System[2]) würden sie, weil nicht mit Bewegungsorganen versehen, zu Bacterium gehören. Die von anderen bevorzugte Trennung der Gattungen Bacterium und Bacillus nach der Länge der Einzelstäbchen erscheint aber gerade mit Rücksicht auf die typischen Milchsäurebakterien als untunlich, da bei diesen je nach der Beschaffenheit des Mediums die Länge der Stäbchen außerordentlich schwankt. Da die beiden Arten im Weine Milchsäure bilden, könnte man sie als Bacterium acidi lactici vini f und d bezeichnen. Eine derartige, von Bakteriologen zwar nicht selten angewandte Benennungsweise steht jedoch mit den Gesetzen der binären Nomenklatur nicht in Einklang und ist daher zu vermeiden. Für die Bakterien der Gruppe f schlage ich die Bezeichnung Bacterium mannitopœum vor (mannitopoion = mannitbildend), für d Bacterium gracile.

Die beiden die dritte Gruppe bildenden Spaltpilze e und i zeigen viel Uebereinstimmung und mögen vorläufig zu einer Art zusammengefaßt werden. Da sie Tetraden (Merismopedientäfelchen) bilden, also Teilungen nach zwei Richtungen aufweisen, gehört die Species nach beiden oben genannten Systemen zur Gattung Micrococcus und möge wegen der Blasen- oder Cystenbildung als Micrococcus cystiopœus (kystiopoios = blasenbildend) bezeichnet sein.

Durch die in diesem Abschnitte beschriebenen Versuche wurde bewiesen, daß Spaltpilze verschiedener Art und Gattung zur Blasenbildung befähigt sind, ferner, daß die Blasenbildung von der Beschaffenheit des Mediums abhängt, und endlich, daß die zur gleichen Art gehörenden blasenbildenden Bakterien je nach der Beschaffenheit des Obstweines verschiedene Gestalt annehmen können.

Außer den eben aufgezählten wurden auch noch weitere Spaltpilze aus verschieden beschaffenen Blasen rein kultiviert, ohne daß jedoch wesentlich abweichende Formen gefunden worden wären. Dagegen sind zwei Vorkommnisse hier anzuschließen, die erkennen lassen, daß offenbar

1) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 2. Aufl. Bd. I. München 1899. p. 147.

2) Migula, W., System der Bakterien. Bd. I. Jena 1897. p. 47.

auch noch Bakterien anderer Art zur Blasenbildung befähigt sind. So fanden sich in einem spontan vergorenen Obstwein, hergestellt aus Sürlerbirne und Ottenbacher Schellerbirne, Blasen, die schon von außen eine merkwürdige Anordnung der Bakterien erkennen ließen. Je vier derselben standen in quadratischer Anordnung nebeneinander, und diese Tetraden waren dann wiederum innerhalb der Blase streng regelmäßig angeordnet. Es wurde versucht, das auffällige Bild auf photographischem Wege zu fixieren, doch kann die Figur (52) eben nur den optischen Querschnitt durch die Blase geben. Immerhin läßt sich die beschriebene Anordnung bei den der Haut anliegenden Tetraden einigermaßen erkennen. Eine kleinere Blase wurde in geöffnetem, zum Teil entleertem Zustande photographiert (Fig. 53), so daß im Innern einige der Bakterientetraden deutlicher zu sehen sind. In Fig. 23 ist die Oeffnung einer größeren derartigen Blase gezeichnet. Diese platzte beim Auflegen des Deckglases und die Zeichnung stellt nun das Austreten der Tetraden durch die entstandene Oeffnung dar. Sie läßt zugleich erkennen, daß die vier Bakterien einer Tetrade in eine Art Schleim oder Gallerte eingebettet, eingekapselt sind. Der Durchmesser solcher Tetraden mitsamt der Schleimsubstanz betrug 2,8—3,2 μ. Das photographische Bild der Einzeltetraden (Fig. 86) deutet das Vorhandensein der verbindenden Masse durch einen helleren Hof um dieselben an. In Fig. 24 ist eine kleinere Blase dieser Art gezeichnet, nachdem sie einige Zeit in geöffnetem Zustande im betreffenden Obstweine auf dem Objektträger gelegen hatte. Es hatte offenbar eine Vermehrung der Einzelbakterien stattgefunden, die Tetraden waren zu kleinen Zooglöen, ja die meisten dieser durch Bildung einer deutlichen Membran zu kleinen Blasen von 3—5 μ Durchmesser geworden. Leider wurde unterlassen, diese Bakterie sofort reinzuzüchten und später gelang dies nicht mehr. Trotzdem ist man wohl berechtigt, sie als zur Gattung Micrococcus gehörig zu betrachten, allein offenbar zu einer anderen Art als Micrococcus cystiopœus. Schon in der regelmäßigen Anordnung der Bakterien in den Blasen weicht sie von dieser ab. Sodann enthalten die Blasen bei dieser neuen Art, die vorläufig Micrococcus spec. heißen möge, ausschließlich Tetraden, bei denjenigen von Micrococcus cystiopœus dagegen neben Tetraden auch Diplokokken und Kokken. Außerdem zeigen aber auch die Tetraden einen ganz anderen Bau. Bei Micrococcus spec. erscheinen die vier Kokken in eine Grundsubstanz gebettet, die sie nach außen hin als deutlich erkennbare Hülle umgibt (Fig. 86), während letzteres bei denjenigen von Micrococcus cystiopœus nicht der Fall ist (Fig. 84 und 85). Endlich sind auch die Tetraden beträchtlich größer, nämlich 2,8—3,2 μ, bei Micrococcus cystiopœus nur 1,2—1,5 μ im Durchmesser.

Ein weiteres Vorkommnis eigenartig beschaffener blasenbildender Bakterien bilden jene, die in den in Fig. 1 gezeichneten auffallend großen Blasen aus einem Reinholzbirnwein gefunden wurden. Die zusammengeballte, rötlich gefärbte Bakterienmasse bestand hier aus langen, 1,1 μ dicken, miteinander verschlungenen Fäden, in denen sich direkt wahrnehmbare, stark lichtbrechende Endosporen befanden. Die Fäden erschienen gegliedert, und in zahlreichen Gliedern war je eine Spore enthalten. Diese Sporen waren wenig dicker als der Bakterienfaden, 1,2 μ dick und 1,6 μ lang und blieben bei Färbung der Bakterien mit Fuchsin oder Methylenblau ungefärbt. Um die Doppelfärbung zu erzielen, wurden die am Deckglas fixierten Bakterien eine Stunde lang mit Anilinwasserfuchsin

behandelt, dann ausgewaschen und mit wässeriger Methylenblaulösung nachgefärbt. Die Sporen erschienen schön rot, die übrigen Partieen der Bakterien blau gefärbt. In Fig. 87 sind die so gefärbten Bakterien abgebildet. Die Blasen waren, als sie untersucht wurden, schon alt und weder die darin enthaltenen Bakterien noch die Sporen entwickelungsfähig. Mit Rücksicht auf die übrige Beschaffenheit der Bakterien könnte man versucht sein, sie der Species Bacterium mannitopœum einzureihen, allein verschiedene, auf Seite 400 beschriebene Versuche, diese letztere Bakterie zur Sporenbildung zu veranlassen, schlugen alle fehl. Auch die rötliche Färbung der Bakterien innerhalb der Blasen haben wir bei keiner der zu dieser Art eingereihten Bakterien a, b, f, g und h beobachtet.

Schon auf Seite 354 dieser Abhandlung habe ich die Vermutung ausgesprochen, es könnte der früher von mir beschriebene Bacillus pilluliformans mit den blasenbildenden Bakterien a, f etc. übereinstimmen oder ihnen nahe verwandt sein. Jene Bakterie wurde in einem Ingelheimer Rotwein guter Qualität gefunden. Nachdem der Wein etwa 1 Jahr in Flaschen gelegen hatte, zeigten sich darin „rundliche schrotähnliche Körner“ von verschiedener Größe, von ganz kleinen, dem bloßen Auge nicht sichtbaren bis zu solchen von 4 mm Durchmesser. Die Einzelbakterien waren Stäbchen von 3—10 μ Länge und 0,75 μ Dicke. Soweit sich hiernach sowie auf Grund noch vorhandener Präparate urteilen läßt, stimmen sie mit a, f etc. überein. Eine differenzierte Haut besaßen diese Gebilde nicht; es waren keine Blasen, sondern, wie auch die übrige Beschreibung erkennen läßt, Zooglöen.

Eine im Sommer 1907 vorgenommene Untersuchung eines 1892er Rotweines von Bernegg im St. gallischen Rheintal lieferte einen weiteren Beweis, daß in Rotweinen ähnliche Gebilde entstehen können, wie sie in dieser Abhandlung für Obstweine beschrieben wurden. Der Wein wurde im Jahre 1894 in Flaschen gefüllt und hielt sich während der 13-jährigen kühlen Lagerung ziemlich gut, war schließlich nicht eigentlich krank, sondern ließ nur einen starken Farbstoffverlust und einen faden Altersgeschmack erkennen. In den untersuchten 3 Flaschen bestand das Depot zur Hauptsache aus kürzeren und längeren Stäbchenbakterien von ca. 0,8 μ Dicke, die teils isoliert, teils zu langen Fäden verbunden waren. Diese, oft auf längere Strecken nicht gegliedert, aber ziemlich stark geknickt, waren vielfach zu lockeren Flocken verfilzt. Neben diesen Bakterien fanden sich auch zahlreiche Zooglöen und zwar viel Anfangsstadien, noch nicht abgerundet und meist zu kleineren bis zu ganz großen Gruppen vereinigt, wie sie z. B. in den Fig. 74 und 76 als Vorkommnisse in Obstwein dargestellt sind. In manchen, offenbar zu weiterer Entwickelung gelangten Zooglöen waren die Einzelbakterien nicht mehr deutlich zu erkennen; sie schienen miteinander verschmolzen zu sein, während in weiteren sich brockige Gebilde befanden, die in Teilung zu kokkenartigen Bakterien begriffen waren. Neben diesen meist zu Gruppen vereinigten Anfangsstadien enthielten die Depots auch zahlreiche isolierte, schon völlig abgerundete Zooglöen von verschiedener Größe, die kleinsten von nur 5—7 μ, zahlreichere von 8—12 μ, seltener solche von 12—20 μ Durchmesser und nur vereinzelt noch größere, die sich bei genauerem Zusehen aber oft als aus kleineren zusammengesetzt erwiesen. Diese isolierten Zooglöen bestanden aus gleichmäßigen kokkenförmigen Bakterien von 0,8—1 μ Durchmesser, die noch durch eine Kittmasse miteinander verbunden waren. Bei manchen ragten die Bakterien der

äußersten Schicht noch etwas nach außen vor; bei anderen hatte sich dagegen über die äußerste Bakterienschicht eine deutliche homogene Hautschicht gebildet und die Oberfläche der Zooglöen erschien jetzt glatt. Die letzten Stadien der Blasenbildung, das Auflösen der Kittsubstanz, das Zusammensinken der Bakterien und das Freiwerden der Blasenmembran konnte nicht beobachtet werden. Möglich, daß die Bakterien schon vor Erreichung dieses Stadiums abgestorben sind. In einigen wenigen Fällen hatte die Verflüssigung im Innern schon begonnen gehabt, so daß nach dem Zerdrücken solcher Gebilde ein großer Teil der Bakterien frei heraustrat und nur an der nun deutlich bemerkbaren Membran noch eine mehrfache Schicht von solchen festhaftete.

Da wir für die Bakterien a und f nachgewiesen haben, daß sie aus Lävulose Mannit, Milchsäure und Essigsäure bilden, so liegt der Gedanke nahe, es möchte auch die von U. Gayon und E. Dubourg[1]) zu ihren Versuchen benutzte, aus einem mannithaltigen Weine gezüchtete Bakterie zu unserem Bacterium mannitopœum gehören oder doch damit verwandt sein. Leider finden sich aber in der betreffenden Abhandlung keine genaueren Angaben über die Beschaffenheit dieses Spaltpilzes und sein Verhalten in festen Nährböden. Die daselbst enthaltene Abbildung würde einer Zusammengehörigkeit nicht widersprechen. Aus der Beschreibung läßt sich schließen, daß die betreffende Bakterie in Wein Zooglöen bildet.

Aeußerlich mit Bacterium mannitopœum übereinstimmende Bakterien finden sich in säurearmen Traubenweinen häufig und zwar sowohl in Rot- als in Weißweinen. Ob sie aber der von uns beschriebenen Art angehören, läßt sich ohne gründliche Untersuchung mittelst bakteriologischen Methoden selbstverständlich nicht behaupten. Von der Bakterienart, die Pasteur als den Erreger der Bitterkrankheit ansah und die J. Wortmann[2]) als Bacillus vini bezeichnete, glaubt letzterer, daß sie Essigsäure erzeuge; doch ist dies, weil nicht an Reinkulturen beobachtet, nicht erwiesen. Weitere Forschungen werden erst ergeben, ob diese und andere der schon bekannten Krankheiterreger in Weinen mit den in vorliegender Arbeit beschriebenen blasenbildenden Bakterien identisch sind oder ihnen doch nahestehen.

Im Nachfolgenden soll nun auf Grund der angestellten Beobachtungen und Kulturversuche eine zusammenhängende Beschreibung der blasenbildenden Bakterien in morphologischer und physiologischer Hinsicht gegeben werden.

Das von uns in der Rasse f am gründlichsten erforschte Bacterium mannitopœum bildet in manchen Obstsäften und Obstweinen Stäbchen von 0,8—1 μ Dicke und 1,5—6 μ Länge, die kleinsten Stäbchen können gelegentlich noch etwas kürzer sein und dann fast rund erscheinen. Die längeren sind entweder deutlich aus kürzeren zusammengesetzt oder es läßt sich eine solche Gliederung nicht erkennen. Ob das eine oder andere in einem Obstweine die Regel bildet, hängt von seiner Beschaffenheit ab, voraussichtlich von der mehr oder weniger günstigen Einwirkung seiner Bestandteile auf Entwickelung und sonstige Lebensvorgänge der

1) Sur les vinis mannités. (Annales de l'inst. Pasteur. T. VIII. 1894. p. 198) und Nouvelles recherches sur le ferment mannitique. (Ann. de l'inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 526.)

2) Untersuchungen über das Bitterwerden der Rotweine. (Landw. Jahrbücher. 1900. p. 652 und 662.)

Bakterie. Außerdem nimmt mit dem Alter der Bakterien die Gliederung meist zu.

Diesem, in säure- und gerbstoffarmen Obstweinen gewöhnlich beobachteten Verhalten gegenüber bildet das gleiche Bacterium in anders beschaffenen Obstweinen oft neben kürzeren auch lange Stäbe, von 10, 20 und mehr Mikromillimeter Länge, die ebenfalls bald mehr in ca. 1,5 μ lange Glieder geteilt, bald in der Mehrzahl ungegliedert sind. In gewissen Fällen gehen sie zur Bildung langer Fäden über, wie z. B. in Fig. 80 dargestellt ist. Auch diese Fäden können durchwegs gegliedert oder aber auf längere Strecken ungegliedert sein. Selbst im gleichen Faden wechseln oft gegliederte und ungegliederte Partieen ab. Nach unseren Beobachtungen begünstigt ein etwas höherer Gerbstoffgehalt das Zustandekommen von längeren Stäben und Fäden, indem er die Gliederung verzögert oder verhindert. Schon auf Seite 392 wurden die aus langen Fäden gebildeten Bakterienflocken geschildert. Mit Bacterium f wurden solche Flocken in Reinkultur gewonnen. Nicht selten ließen die Bakterienfäden in solchen Flocken, soweit man sie verfolgen konnte, selbst nach Fixierung und Färbung keine Gliederung erkennen; andere waren deutlich in kürzere oder längere Glieder geteilt.

Wenn, was häufig vorkommt, die einzelnen Glieder eines Stäbchens oder Fadens sichtlich voneinander entfernt sind, so weist dies auf eine verbindende Substanz hin. Diese, eine Art Schleim, umgibt, wie Färbungsversuche in einigen Fällen zeigten, die isoliert lebenden Bakterien allseitig und spielt beim Zustandekommen der Zooglöen noch eine besondere Rolle.

Bei Reinkulturen von Bacterium mannitopœum beobachteten wir öfters zwei dicht nebeneinander liegende Bakterienfäden, die sich nicht voneinander trennen ließen, wie wenn sie von einer gemeinschaftlichen Schleimhülle umgeben wären. Auffällig war nun bei solchen Vorkommnissen, daß die Unterbrechungen der beiden Fäden in kürzere Glieder sich oft genau an übereinstimmenden Stellen befanden; es machte den Eindruck, als ob sich ein in mehrere Stäbe geteilter Faden nachher noch der Länge nach gespalten hätte. Trotz sorgfältiger Verfolgung zahlreicher Kulturen in hängenden Tropfen konnte das Zustandekommen solcher Vorkommnisse nicht direkt beobachtet werden. Wird eine Längsspaltung von Bakterienfäden als unwahrscheinlich betrachtet, so muß man wohl annehmen, es werde bei solchen dicht nebeneinander liegenden Fäden die Gliederung des einen Fadens durch die des anderen beeinflußt.

Die in Fig. 1 gezeichneten großen Blasen enthielten fadenförmige Bakterien mit Endosporen. Die hieran sich knüpfende Vermutung, es möchten die zur Gruppe f gehörenden blasenbildenden Bakterien überhaupt zur Sporenbildung befähigt sein, gab Veranlassung zu einer Reihe von Versuchen, die Sporenbildung durch Aenderung des Mediums herbeizuführen. Die reingezüchtete Bakterie f wurde in einem Teilersbirnsaft, in dem sie erfahrungsgemäß üppig wuchs und Flocken bildete, vermehrt und von diesem Material übertragen in gekochtes Leitungswasser, in 25- und 50-proz. Saccharoselösung, in gekochtes Leitungswasser + 10 Proz. Alkohol, in Teilersbirnsaft + 10 Proz. Alkohol, in gekochtes Wasser + 8 Proz. Weinsäure, in Traubensaft. Sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 27° kam es in keiner dieser Flüssigkeiten zur Sporenbildung. Auch auf Glasstreifen ausgebreitet, die dann im feuchten Raume aufgestellt wurden, bildete die Bakterie f keine Sporen; sie mußte also vorläufig als nicht sporenbildend betrachtet und die erwähnte in den Blasen sporenenthaltende davon unterschieden werden. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Nitrifikation.

[Aus dem landwirtschaftlich bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.]

Von **Leslie C. Coleman.**

Daß die Bildung der Nitrate im Boden auf die Tätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen ist, wurde zuerst von Schloesing und Müntz [1]) festgestellt. Diese Forscher fanden, daß sie die Nitrifikationsprozesse im Boden durch Erhitzen des Bodens oder durch Behandlung desselben mit Chloroform aufheben konnten. Eine Nitrifikation in dem durch Hitze sterilisierten Boden trat erst wieder ein, als ein Auszug aus einem nitrifizierenden Boden diesem zugesetzt wurde. Bei dem mit Chloroform behandelten Boden fand derselbe Vorgang erst nach dem Entweichen des Chloroforms statt. Trotz der Bemühungen mehrerer Forscher, wie Frank, Adametz, P. und G. Frankland [2]), blieben die nitrifizierenden Formen unbekannt, bis Winogradsky [3]) durch seine epochemachende Arbeit nicht nur die betreffenden Bakterien entdeckte und rein züchtete, sondern auch eine neue Methodik der bakteriologischen Forschung einführte. Von dem Gedanken ausgehend, daß die Kochsche Plattenmethode keine Resultate ergeben hatte, gerade weil die nitrifizierenden Formen auf den üblichen Nährböden nicht zu wachsen vermögen, suchte er nach den der Nitrifikation günstigsten und dem Wachstum anderer Bodenbakterien ungünstigsten Bedingungen. Wie bekannt, fand er diese beim Ausschluß von organischen Substanzen mit gleichzeitigen Zugaben von den zu nitrifizierenden Verbindungen (Ammoniaksalzen bezw. Nitriten).

Winogradsky [4]) hatte schon in seinen Untersuchungen über die Schwefelbakterien Formen gefunden, die ein ähnliches Verhalten organischen Substanzen gegenüber zeigten. In beiden Gruppen erlangen die Bakterien die zum Lebensunterhalt nötige Energie durch die Oxydation sauerstofffreier bezw. sauerstoffarmer anorganischer Verbindungen. Die nitrifizierenden Bakterien wenigstens benutzen diese Energie unter anderem zum Assimilieren der Kohlensäure der Luft; das Sonnenlicht spielt bei dieser Assimilation keine Rolle, da sie ebensogut im Dunkeln wie im Lichte vor sich geht. Daß diese Assimilation in der Tat stattfindet, machte Winogradsky [5]) sehr wahrscheinlich, indem er zeigte, daß der Nitratbildner (in Wahrheit ein Gemisch der Nitritbildner und Nitratbildner) im Dunkeln in Lösungen, die sorgfältig von organischen Substanzen befreit wurden, zu gedeihen vermag. Indirekt hat er diese Assimilationsfähigkeit bewiesen, indem er ein bestimmtes Verhältnis

1) Schloesing und Müntz, Compt. rend. de l'académie. T. LXXXIV. 1887. p. 301 und T. LXXXV. p. 1018.

2) Siehe Winogradsky, Lafar, Techn. Mykologie. 2. Aufl. Bd. III. 1904. p. 132.

3) Winogradsky, Annales de l'inst. Pasteur. T. IV. 1890. p. 213 und 760; T. V. 1891. p. 72 und 77.

4) Winogradsky, Bot. Ztg. Bd. XLV. 1887. p. 491; Bd. XLVI. 1888. p. 261; ferner Beitr. z. Morphologie und Physiologie der Bakterien. I. 1888.

5) Winogradsky, Annales de l'inst. Pasteur. T. IV. 1890. p. 268.

zwischen dem assimilierten Kohlenstoff und dem oxydierten Ammoniak fand, welches einen Wert von ca. 1:35 hatte. Godlewski[1]) lieferte ebenfalls einen Beweis; er konstatierte, daß der Nitritbildner in kohlensäurefreier Atmosphäre absolut nicht wuchs, während er bei freiem Kohlensäurezutritt gedeihen und Ammoniak oxydieren konnte. Ein ähnlicher Versuch mit dem Nitratbildner ist bis jetzt nicht gemacht worden.

Aus diesen Resultaten ersieht man, daß die nitrifizierenden Bakterien organische Substanzen als Kohlenstoffquelle nicht nötig haben. Die weitere Frage, wie solche Verbindungen auf die nitrifizierenden Bakterien wirken, blieb immer noch offen bis zum Erscheinen der Arbeit von Winogradsky und Omelianski[2]) über den Einfluß organischer Substanzen auf die Nitrifikation. In dieser Arbeit haben die russischen Forscher gezeigt, daß diejenigen organischen Substanzen, die den meisten Bakterien als vorzügliche Nährstoffquellen dienen, auf die Nitrifikation hemmend wirken. Nach ihren Resultaten haben z. B. Dextrose, Pepton und Asparagin bei den nitrifizierenden Bakterien einen noch größeren antiseptischen Wert, als Phenol und Salicylsäure gegen Bakterien im allgemeinen.

Die beiden Autoren fanden, daß der hemmende Einfluß organischer Substanzen mit der Menge der vorhandenen Bakterien ziemlich stark variiert. In einem Versuch (Versuch 2 p. 340), wo sie große Impfmengen benutzten, schienen kleine Zugaben von Pepton und Harnstoff eher begünstigend, als hemmend zu wirken. Daraus schließen sie, daß diese Substanzen besonders hemmend auf die Vermehrung der Bakterien wirken, obgleich sie glauben, daß die Vermehrung und die Oxydation in enger Verbindung miteinander stehen. In noch einem anderen Versuche schien Dextrose in sehr schwacher Konzentration (0,025 Proz.) einen fördernden Einfluß auf die Nitrifikation auszuüben. Diese etwas abweichenden Resultate bekamen sie nur mit dem Nitratbildner, und da sie in anderen Versuchen keine Bestätigung derselben fanden, glaubten sie, daß der scheinbar fördernde Einfluß kleiner Mengen von Dextrose, Pepton und Harnstoff auf einer Täuschung beruhte. Als Gesamtergebnis der Arbeit geben sie an, daß die organischen Substanzen für beide Gruppen der nitrifizierenden Bakterien als „Antiseptika" betrachtet werden müssen.

Diese Auffassung, die überall als richtig anerkannt worden ist, scheint jedoch bis zu einem gewissen Grade mit den Vorgängen in der Natur im Widerspruch zu stehen. Wie Winogradsky[3]) selber angibt, und wie schon Boussingault gezeigt hat, tritt die Nitrifikation in humösen Böden am kräftigsten auf, wo die Anwesenheit gelöster organischer Substanzen nicht in Frage gestellt werden kann. Es fragt sich infolgedessen, ob wir die Resultate Winogradskys und Omelianskis ohne weiteres auf die Vorgänge im Boden übertragen können. Erstens darf man nicht vergessen, daß ihre sämtlichen Versuche mit flüssigen Kulturen gemacht wurden, wo vor allen Dingen die physikalischen Bedingungen sehr von denen in der Natur abweichen. Weiter ist daran zu erinnern, daß die Bakterien durch Reinzucht und Wachstum auf Nitritagar bezw. in Ammoniaklösung sich an ganz andere als die in der

1) Godlewski, Anz. d. Akad. Krakau 1895. p. 178. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1896.

2) Winogradsky und Omelianski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 329.

3) Winogradsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 415.

Natur herrschenden Bedingungen anpassen mußten. Wie schon Winogradsky und Omelianski[1]) betonten, beeinflußt die Art der Kultur der nitrifizierenden Bakterien stark die Wirkung der organischen Substanzen auf dieselben, besonders insofern eine Anpassung der Bakterien an die organische Substanz zu beobachten ist. Eine solche Anpassung muß in geringem Grade auch schon im Boden, der gewisse Mengen organischer Substanz enthält, vorhanden sein. Deshalb muß man an dem Grad der Empfindlichkeit dieser Mikroorganismen gegenüber organischen Substanzen zweifeln, wie er sich aus der Arbeit Winogradskys und Omelianskis ergibt. (Vergl. auch Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 712.)

Seit dem Erscheinen dieser Arbeit sind ihre Resultate nur in sehr beschränkter Weise nachgeprüft worden. Da Warington und Frankland behaupteten, der Nitritbildner könnte organischen Stickstoff angreifen und in Nitrit überführen, untersuchte Omelianski[2]) sorgfältig diese Frage, und fand dabei, daß Harnstoff und Asparagin (beide 1 Proz.) Eiereiweiß (0,1 Proz.), Bouillon und Harn (5—100 Proz.) in einer alkalisch gemachten Nährlösung mit Reinkulturen des Nitritbildners geimpft, selbst nach Monaten keine Spur von gebildetem Nitrit zeigten. Löhnis[3]) hat die Salpeterbildung in der gewöhnlichen Omelianskischen Ammoniaknährlösung mit der in einem Bodenextrakt, zu welchem dieselbe Menge Ammoniumsulfat zugesetzt wurde, verglichen. Wie er angibt, enthielt sein Bodenextrakt ca. 0,6 Proz. organischer Substanz. Er fand die Nitrifikation in diesem Extrakt ebenso stark, wenn nicht etwas stärker, als in der künstlichen anorganischen Nährlösung. Wimmer[4]) hat den Einfluß des Peptons auf die Tätigkeit des Nitratbildners nachgeprüft und die Resultate von Winogradsky und Omelianski im wesentlichen bestätigt. Er hat aber gefunden, daß in Reinkulturen in mit Nährlösung durchtränktem Sand die hemmende Wirkung viel geringer war als in der Nährlösung. In seinen Versuchen war die Impfmenge in jedem Falle eine Platinöse aus einer flüssigen Kultur, so daß eine verhältnismäßig sehr kleine Anzahl Bakterien zugeführt wurde.

In jüngster Zeit haben Müntz und Lainé[5]) die Nitrifikation des organisch gebundenen Ammoniaks untersucht. Sie stellten eine Huminsäure aus Gartenboden her und neutralisierten sie mit Ammoniak. Dann bereiteten sie zwei Lösungen, von denen eine das huminsaure Ammoniak, die andere statt dessen Ammoniumsulfat enthielt. In beiden Lösungen war die Konzentration des Ammoniakstickstoffes gleich und betrug ca. 0,168 g pro Liter. Diese beiden Lösungen wurden sodann in flache Kolben gebracht und mit gleichen Mengen einer nitrifizierenden Kultur geimpft. Nach 53 Tagen hatten sich in der ersten Lösung 0,236 g Nitratstickstoff gebildet, während in der zweiten nur 0,106 g vorgefunden wurden. Bei einem zweiten Versuche, wo Schlacken als Substrat benutzt wurden, war der Unterschied noch größer.

In noch einer anderen Versuchsreihe verglichen sie die Nitrifikation in Böden mit verschiedenem Humusgehalt, wobei in den humusreicheren eine viel raschere Nitrifikation gefunden wurde. Doch als sie darauf

1) a. a. O.
2) Omelianski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. p. 473.
3) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1903. p. 463.
4) Wimmer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1904. p. 160.
5) Müntz et Lainé, Compt. rend. de l'acad. T. CXLII. 1906. p. 430.

die Nitrifikation durch wiederholte Zugaben von Ammoniumsulfat längere Zeit im Gange hielten, bemerkten sie, daß dieser Unterschied sich ausglich. Danach schließen sie: „S'il y a une différence, c'est surtout pendant la période initiale de l'alimentation en matière nitrifiable: plus tard cette différence s'atténue. Le rôle de la matière organique nous apparaît donc surtout comme un rôle de début que nous devons chercher à expliquer."

Im letzten Jahre hat Bazarewski[1]) aus dem hiesigen landwirtschaftlich-bakteriologischen Institute eine Reihe von Untersuchungen veröffentlicht, die eine begünstigende Wirkung von Dextrose, also einer stickstofffreien organischen Substanz, auf die Nitrifikation zeigen. Gerade weil diese Resultate in einem gewissen Widerspruch zu den Winogradsky-Omelianskischen Befunden zu stehen scheinen, verleihen sie der ganzen Frage ein erneutes Interesse. Deshalb schien eine Erweiterung dieser Untersuchungen, speziell der von Bazarewski, sich zu lohnen, besonders da seit dem Abschluß der Arbeit von Bazarewski die Methode der Nitratbestimmung im Boden von Buhlert und Fickendey[2]) wesentlich verbessert worden ist. Diese fanden, daß eine halbstündige Schüttelzeit genügt, um ein vollständiges Ausziehen des Nitratstickstoffes zu bewirken. Durch Anwendung dieser verkürzten Ausziehungszeit kann eine eventuell eintretende Denitrifikation, welche, wie auch gleichzeitige Befunde von Bazarewski beweisen, bedeutende Verluste des Nitrates herbeiführen könnte, vermieden werden.

Außer der theoretisch sehr großen Wichtigkeit der Frage nach der Beeinflussung der Nitrifikation durch gelöste organische Substanzen ist sie auch praktisch von großem Interesse. — Wie allgemein bekannt, erblicken Winogradsky und Omelianski in der großen Empfindlichkeit der nitrifizierenden Organismen organischen Substanzen gegenüber eine Art Schutzvorrichtung gegen Denitrifikation, wodurch das Endprodukt — das Nitrat — im Boden erhalten und den höheren Pflanzen als Stickstoffquelle ohne Verlust übergeben werden kann.

Die Beziehung der Nitrifikation zur Denitrifikation im Boden ist eine schon sehr viel diskutierte Frage gewesen. Zuerst wurde die Bedeutung der Denitrifikation stark übertrieben (vide Wagner, Deutsche landw. Presse. 1905. p. 92). Nachher betonten verschiedene Autoren, daß eine bedeutende Denitrifikation nur in solchen Fällen eintreten könnte, wo organische Substanzen und Salpeter zu gleicher Zeit dem Boden zugesetzt wurden. Diese Anschauung gründet sich hauptsächlich auf die Befunde Winogradskys und Omelianskis. Durch die von ihnen entdeckte Empfindlichkeit gegenüber organischen Substanzen sollen die nitrifizierenden Bakterien erst in Tätigkeit gelangen, nachdem die im Boden vorhandenen organischen Verbindungen durch Fäulnis- und Gärungsorganismen zerstört worden sind. Da die Denitrifikatoren zum Entfalten ihrer stickstoffentbindenden Tätigkeit solche organische Verbindungen als Kohlenstoffquelle verlangen, wird dadurch die Denitrifikation im Boden so gut wie ganz aufgehoben, falls keine neuen organischen Substanzen dem Boden zugeführt werden. Winogradsky[3])

---

1) Bazarewski, Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation und Denitrifikation im Boden. Diss. Göttingen 1906.

2) Buhlert und Fickendey, Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LXIII. 1906. p. 239.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 439.

und Omelianski drücken sich folgendermaßen aus: „Was die Gefahren der Denitrifikation betrifft, so sind sie nicht groß, weil eben die Denitrifikatoren ihre Wirkung nur auf Kosten der organischen Substanzen ausüben können, welche beim Beginn der Salpeterbildung schon zerstört sind. Die betreffenden Organismen sind also notwendigerweise zur Untätigkeit verdammt. Diese Gefahr könnte erst dann auftreten, wenn man zu einer schon nitrifizierten oder auf dem Wege zur Nitrifikation befindlichen Masse frische organische Substanz hinzufügte. Dann würde die ganze Arbeit der salpeterbildenden Mikroben vernichtet, der Salpeterstickstoff würde frei und ginge verloren, die salpeterbildenden Mikroben würden wieder in den Ruhezustand versetzt, nicht ohne daß ein großer Teil derselben infolge der plötzlichen Veränderung des Nährbodens zu Grunde ginge."

Diese Ansicht wird in den verschiedenen Lehrbüchern sehr allgemein vertreten[1]. A. Fischer[2]) bemerkt jedoch, es wäre denkbar, daß in den kleinen Räumchen des Bodens verschiedene Prozesse, wie Fäulnis und Nitrifikation, nebeneinander vor sich gehen könnten. Jedoch fügt er hinzu: „Im allgemeinen wird es aber richtiger sein, anzunehmen, daß durch die ganze Ackerkrume der Prozeß gleichmäßig verläuft. Der ersten Periode der ausschließlichen Ammoniakbildung folgte die zweite der Nitritbildung und ihr die dritte der Salpeterisierung. Für die Denitrifikation und den von ihr befürchteten Stickstoffverlust bleibt in unserem Schema, leider nur ein Schema, kein Platz übrig." Die hier angeführte Auffassung ist sicherlich zum Teil nicht richtig. Von scharf getrennten Stadien der Nitrit- und Nitratbildung finden wir im Boden fast gar keine Spuren. Ja Boulanger und Massol[3]) zeigten, daß in Mischkulturen der beiden Organismen nur das Endprodukt — das Nitrat — zu finden war, und fanden eine Erklärung hierfür nur in der Tatsache, daß das Ammoniak besonders auf die Vermehrung, bei weitem nicht so stark auf die oxydierende Tätigkeit des Nitratorganismus hemmend wirkt. Auch dürfte die Trennung der Ammoniakbildung und der Nitrifikation in zwei Stadien im Boden nicht sehr scharf ausgeprägt sein. Wenn dieses der Fall wäre, könnte auch die Denitrifikation ihre Rolle spielen. In der Tat hat Löhnis[4]) schon die Ansicht Winogradskys ziemlich stark bestritten. Auf seine eigenen Beobachtungen, wie diejenigen Hiltners und Störmers[5]), Gerlachs und Vogels[6]) und Richters[7]) gestützt, zieht er den Schluß, daß die beiden Prozesse in gewissem Grade und unter gewissen Bedingungen gleichzeitig in der Ackererde stattfinden.

Mancherlei Fragen sind also in Bezug auf die Nitrifikation, besonders soweit der Boden in Frage kommt, noch zu lösen. Die folgende Arbeit soll als kleiner Beitrag in dieser Richtung dienen.

Die Aufgaben, die ich wenigstens teilweise zu lösen gesucht habe, sind die folgenden: Erstens wiederholte und ergänzte ich die Versuche

1) Vergl. Jensen in Lafar, Techn. Mykol. Bd. III. 1904. p. 189.
2) Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903. p. 189.
3) Boulanger et Massol, Annal. Pasteur. T. XVII. 1903. p. 492; T. XVIII. 1904. p. 181.
4) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. p. 706.
5) Hiltner und Störmer, Arb. a. d. biol. Abt. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. 1903. p. 504.
6) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 622.
7) Richter, Landw. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899. p. 221.

Bazarewskis über den Einfluß der Dextrose auf die Nitrifikation im Boden; zweitens habe ich verschiedene andere organische Verbindungen auf ihren Einfluß auf die im Boden stattfindende Nitrifikation geprüft; drittens untersuchte ich die Möglichkeit einer gleichzeitigen Nitrifikation und Denitrifikation im Boden; viertens suchte ich nach einer Erklärung des begünstigenden Einflusses der Dextrose auf die Nitrifikation durch Versuche mit Reinkulturen; fünftens machte ich einige Versuche über die Kohlenstoffernährung des Nitratbildners. Zum Schluß folgen einige Versuche über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffes auf die Nitrifikation im Boden. Veranlassung gab die Mitteilung von Chaudon de Briailles, welcher eine Verstärkung der Salpeterbildung im Boden durch Schwefelkohlenstoff wahrscheinlich machte. Dagegen beobachtete Heinze neuerdings eine anfängliche Schwächung der Salpeterbildung durch Schwefelkohlenstoff, und deshalb habe ich die Frage untersucht, um womöglich diesen Widerspruch aufzuklären.

I. Einfluß der Dextrose auf die Nitrifikation im Boden.

Bazarewski hat, wie oben angegeben, schon Versuche über den Einfluß der Dextrose auf die Nitrifikation im Boden gemacht. Zu diesem Zwecke benutzte er Porzellanteller, worauf er ein Gemisch von Lehmboden und Sand (3:1) brachte, und zwar 400 g auf jeden Teller. Jeder Teller wurde dann mit einer Lösung von 0,942 g Ammoniumsulfat (ca. 0,2 Proz. des Bodengewichtes) in 25 ccm destilliertem Wasser begossen. Zu einigen Tellern wurden dann verschiedene Mengen gleichfalls in 25 ccm destilliertem Wasser gelöster Dextrose zugegeben. Die mit Ammoniak versehenen Kontrollteller bekamen außerdem 25 ccm, diejenigen ohne Ammoniak 50 ccm destillierten Wassers, um die Feuchtigkeit in allen gleichzuhalten. Nach verschiedenen Zeitintervallen (8—14 Tagen) wurden die Teller einer Nitratanalyse unterworfen. Im ganzen hat er drei solche Versuchsreihen untersucht, und seine Resultate zeigen, daß eine Zugabe von Dextrose bis zu 0,75 Proz. des Bodengewichtes eine ganz deutliche Steigerung der Nitrifikation hervorbrachte. Zugaben von 0,2—0,5 Proz. Dextrose schienen am günstigsten zu wirken; bei 0,75 Proz. ließ die Förderung schon etwas nach, während 1 Proz. ziemlich stark hemmend wirkte.

Meine Versuche wurden in ähnlicher Weise angestellt, doch mit verschiedenen Aenderungen. Erstens, um einen größeren Ausschlag zu bekommen und um Unregelmäßigkeiten, die bei Benutzung einer kleinen Erdmenge eintreten könnten, zu vermeiden, benutzte ich fast in allen Fällen größere Teller, auf welche ich 1000—1500 g Erde brachte. Zweitens variierte ich die Zeitdauer der Versuche, wie auch die Menge des zugegebenen Ammoniaks. Wie in Bazarewskis Versuchen wurden durch ein tägliches Begießen mit destilliertem Wasser die ursprünglichen Feuchtigkeitsverhältnisse (ca. 15 Proz. Wassergehalt) aufrecht gehalten. Die Teller wurden im Brützimmer bei einer Temperatur von 25—27 ° C, welche Bazarewski als der Nitrifikation am günstigsten gefunden hat, bewahrt.

Versuch I.

Bei diesem Versuche wurde Lehmboden des hiesigen Versuchsfeldes mit $^1/_3$ seines Gewichtes Lüneburger Sand gemischt und 1500 g auf je 5 Teller gebracht. 1 Proz. des Gewichtes in 100 ccm destilliertem Wasser gelöstes Ammoniumsulfat wurde 4 Tellern beigefügt. Der fünfte

Teller wurde mit 100 ccm destilliertem Wasser begossen und diente auf diese Weise als Kontrolle ohne Ammoniakzugabe. Dextrose wurde in Konzentrationen von 0,02, 0,2 und 0,5 Proz. des Erdgewichtes gleichfalls in 100 ccm Wasser gelöst, je 3 Tellern zugesetzt. Den 2 anderen mit und ohne Stickstoffzugabe zur Kontrolle dienenden Tellern wurden 100 ccm destilliertes Wasser zugegeben. Nach 18-tägigem Stehen im Brützimmer bei ca. 25° ist der gebildete Nitratstickstoff bestimmt worden. Die Resultate sind in folgender Tabelle angegeben:

Tabelle I (Analytische Belege, Analyse 1).

Ammoniumsulfat (N.)- und Dextrose (D.)-Zugaben	An Nitratstickstoff pro 1000 g lufttrockener Erde gefunden nach 18 Tagen in mg	An Nitratstickstoff nach Abzug des im Teller 1 gebildeten Nitratstickstoffes in mg
1) ohne N. ohne D.	14,5	
2) N.	190,60	176,1
3) N. + 0,02 Proz. D.	225,8	211,3
4) N. + 0,2 „ „	241,8	227,3
5) N. + 0,5 „ „	217,2	202,7

Beim Vergleich mit den Resultaten Bazarewskis sieht man eine ziemlich gute Uebereinstimmung; nur erwies sich hier die Zugabe von 0,5 Proz. Dextrose als nicht so günstig wie die von 0,02 Proz. Doch hatte in jedem Falle die Dextrose einen fördernden Einfluß auf die Nitrifikation.

Versuch II.

Zu gleicher Zeit mit dem Versuch I wurde ein zweiter Versuch mit demselben Erd- und Sandgemisch angestellt. Nur benutzte ich in diesem Falle kleinere Teller und brachte nur 400 g des Gemisches auf jeden. Derselbe Prozentsatz Ammoniumsulfat, diesmal in 25 ccm destilliertem Wasser gelöst, und Dextrose in Konzentrationen von 0,2, 0,5 und 1 Proz. (auch in 25 ccm destilliertem Wasser) wurde zugegeben. Ein Teller wurde als Kontrolle ohne Dextrosezugabe behalten. Je 2 Teller wurden mit den angegebenen Mengen Dextrose behandelt. Nach 26-tägigem Stehen im Brützimmer, also nach längerer Zeit als im Versuch I, wurde die gebildete Salpetersäure bestimmt.

Tabelle II (Analytische Belege, Analyse 2).

Ammoniumsulfat (N.)- und Dextrose (D.)-Zugaben	An Nitratstickstoff pro 1000 g trockener Erde gefunden nach 26 Tagen in mg
1) N.	180,9
2) N. + 0,2 Proz. D.	141,0
3) N. + 0,5 „ „	147,5
4) N. + 1,0 „ „	115,6

Bei diesem Versuche zeigte die Kontrollerde eine höhere Nitratbildung als die mit Dextrose behandelten Portionen. Wie Bazarewskis und meine folgenden Versuche zeigen, lag dies nur an der längeren Dauer des Versuches. Den wirklichen Grund für diese Abweichung werde ich später erläutern.

Um die Resultate meiner beiden ersten Versuchsreihen noch zu befestigen, wurde eine dritte Reihe angestellt. Dafür wurde ein ähnliches Gemisch benutzt. Große Teller wurden mit je 1500 g des Gemisches

gefüllt und dieselben Zugaben von Ammoniumsulfat wurden gemacht. Die Dextrosezugaben waren in diesem Falle 0,2 und 0,5 Proz. und Nitratanalysen wurden nach 8, 14, 20 und 27 Tagen gemacht. Die Resultate sind in folgender Tabelle gegeben:

Tabelle III (Analytische Belege, Analysen 3—6).

Ammoniak (N.)- und Dextrose (D.)-Zugaben	An Nitratstickstoff gebildeter N. pro Kilo trockener Erde nach			
	8 Tagen	14 Tagen	20 Tagen	27 Tagen
	mg	mg	mg	mg
1) N. ohne D.	34,4	83,5	271,9	606,74
2) N. + 0,2 Proz. D.	22,3	123,2	426,3	668 50
3) N. + 0,5 „ „	45,9	183,9	452,8	653,96

Hier fanden die Resultate des ersten Versuches eine Bestätigung. Nach 14 bezw. 20 Tagen ist der Unterschied zwischen ohne Dextrose belassenem Boden und mit Dextrose behandelter Erde sehr groß. Wenn wir aber das Gewicht des am Anfang des Versuches im Boden vorhandenen Nitratstickstoffs (ca. 20 mg) abziehen, finden wir nach 14 resp. 20 Tagen die folgenden Werte für den gebildeten Nitratstickstoff:

	nach 14 Tagen	nach 20 Tagen
	mg	mg
N.Kontrolle	63,5	251,9
N. + 0,2 Proz. D.	103,2	406,3
N. + 0,5 „ „	163,9	432,8

Danach würde nach 14 Tagen etwas mehr als $2^1/_2$mal soviel Salpetersäure in der mit 0,5 Proz. Dextrose behandelten Erde als in der Kontrollerde, nach 20 Tagen nicht ganz 2mal soviel gebildet. — Diese Ausschläge sind bedeutend höher als die von Bazarewski gefundenen, und lassen darüber, daß die Dextrose eine sehr schnell und erheblich begünstigende Wirkung auf die Nitrifikation ausgeübt hat, keinen Zweifel bestehen. Es ist zu bemerken, daß sich nach 27 Tagen die Unterschiede sehr verringert hatten. Wenn wir die in der letzten Woche des Versuches gebildete Salpetersäure in den 3 Fällen vergleichen, bekommen wir die folgenden Zahlen:

	Nitratstickstoff pro Kilo trockener Erde während der letzten Woche gebildet
	mg
N.Kontrolle	334,82
N. + 0,2 Proz. D.	242,34
N. + 0,5 „ „	227,70

Hiernach ist die Salpetersäurezunahme im Kontrollteller während der letzten Woche des Versuches eine viel größere gewesen. Daß dies auf eine stärkere Salpeterbildung zurückzuführen ist, scheint mir auch hier zweifelhaft. Viel wahrscheinlicher ist es mir, daß unter den der Denitrifikation günstigeren Verhältnissen, die in den beiden anderen Tellern geherrscht haben: Anwesenheit organischer Substanzen — (durch die Zersetzung des Zuckers entstandener organischer Säuren) und größerer Mengen Nitrat — eine stärkere Stickstoffentbindung eingetreten war, die das ganze Bild am Schlusse des Versuches verschleiert hat. Besondere, die Richtigkeit dieser Ansicht beweisende Versuche werden sogleich beschrieben werden. Schon jetzt sei darauf hingewiesen, daß die Resultate

dieses Versuches auffallende Aehnlichkeit mit denen meines zweiten Versuches und den von Bazarewski angegebenen (Tabelle X, p. 37) bieten.

Aus den schon angeführten Resultaten ersieht man, daß eine scheinbar ungünstige Wirkung des Zuckers nur in denjenigen Fällen eingetreten ist, wo die Versuchsdauer verhältnismäßig sehr lang war. Sie konnte daher, wie schon gesagt, auf eine eintretende Dinitrifikation zurückgeführt werden. Vielleicht hält die günstige Wirkung der Dextrose nur auf kurze Zeit vor. Sicher ist es, daß die Dextrose sehr bald aus dem Boden verschwindet, und es wäre vielleicht anzunehmen, daß kurz nach ihrem Verschwinden ihre günstige Wirkung gleichfalls erlischt. In diesem Zusammenhang ist es interessant, die Resultate von Müntz und Lainé wieder ins Auge zu fassen.. Wie schon erwähnt, fanden diese, daß der Einfluß der organischen Stoffe in humusreichem Boden auf die Nitrifikation sich im wesentlichen auf das erste Stadium beschränkte; später war er nicht mehr deutlich zu erkennen. Es ist interessant, ihre diesbezüglichen Resultate mit den oben angegebenen zu vergleichen. Sie setzten fünf verschiedenen Böden, die sich in der Hauptsache nur durch einen verschiedenen Humusgehalt unterschieden, 2 g Ammoniumsulfat pro Kilo zu. Nach 7 Tagen bestimmten sie den Nitratstickstoff. Darauf führten sie das Experiment weiter und fügten immer frisches Ammoniumsulfat zu, so daß der Ammoniakstickstoff konstant auf ca. 0,200 g pro Kilo gehalten wurde. Nach 32 Tagen wurden die Böden wieder einer Nitratanalyse unterworfen. Die Resultate des ganzen Versuches sind die folgenden:

Nature de la terre	I. Terre de jardin	II. Terreau consommé	III. Terre Silice-calcaire	IV. Terre argileuse	V. Terre argile-calcaire
Carbone humique pour 100	3,8	17,6	1,5	1,0	1,5
Azote nitrifié par kg de terre en 7 jours	0,282 g	0,411 g	0,007 g	0,064 g	0,064 g
Azote nitrifié par kg de terre en 32 jours	0,743 „	1,346 „	0,653 „	0,906 „	0,871 „

Aus diesen Resultaten schließen sie, daß die günstige Wirkung der organischen Substanz sich auf die erste Zeit des Versuches beschränkt hat. Sie beachten die Möglichkeit überhaupt nicht, daß das scheinbare Ausgleichen der Nitrifikation auf einer durch die Anwesenheit organischer Substanzen stärker hervortretende Denitrifikation beruhen könnte. Ein Vergleich dieser Daten mit denen meiner Versuche ist besonders interessant; wie folgende Versuche zu zeigen scheinen, spielt in beiden Fällen die Denitrifikation eine wichtige Rolle.

Versuch IV.

Um das Bild zu vervollständigen, wurde ein Versuch von bedeutend längerer Dauer gemacht. Hierbei wurde Lehmboden und Sand in dem Verhältnis 2 : 1 gemischt und je 1500 g auf Teller gebracht. In diesem Falle betrug der Ammoniumsulfatzusatz nur 0,2 Proz. des Trockengewichtes. Die Erde wurde viel trockener gehalten (10—12 Proz. Wassergehalt), aber sonst waren die Verhältnisse den oben angegebenen gleich. Analysen wurden nach 22 Tagen, 37 Tagen und 53 Tagen gemacht. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle angegeben.

Tabelle IV (Analytische Belege, Analysen 7—9).

Ammoniak (N.-) und Dextrose (D.-)Zugaben	An Nitratstickstoff gebildeter N pro Kilo trockener Erde nach		
	22 Tagen	37 Tagen	53 Tagen
	mg	mg	mg
1. N. Kontrollle	110,8	209,7	288,7
2. N. + 0,02 Proz. D.	—	257,3	279,1
3. N. + 0,5 „ D.	187,5	219,6	346,7

Die Nitrifikation zeigt hier einen unregelmäßigen Verlauf. Jedoch tritt die Beschleunigung durch 0,02 Proz. Dextrose nach 37 und die durch 0,5 Proz. Dextrose nach 53 Tagen deutlich hervor. Der Versuch ist hier auch nur aufgeführt, weil er sogleich zu einem anderen Zwecke noch benutzt wurde. Die abweichenden Resultate, zu denen ich in meinem zweiten und dritten Versuche gelangte. brachten mich, wie bemerkt, auf die Vermutung, die Denitrifikation könnte hier die störende Rolle gespielt haben. Deshalb setzte ich von den Tellern des zuletzt geschilderten Versuches vier Zählversuche für Denitrifikatoren an. Ich wandte die Verdünnungsmethode an, indem ich Jensensche Lösung enthaltende Röhren mit verschiedenen Mengen einer Erdaufschwemmung impfte. Ich brachte ca. 10 g Erde aus dem Kontrollteller und dem Teller mit 0,5 Proz. Dextrosezugabe in einen 400 ccm sterilisiertes Wasser enthaltenden Kolben. Nach langem Schütteln, um die Erdpartikelchen möglichst gleichmäßig zu verteilen, brachte ich mit sterilisierter Pipette 50 ccm der Aufschwemmung in einen zweiten gleichfalls 400 ccm sterilisiertes Wasser enthaltenden Kolben. Die Verdünnung wurde in ähnlicher Weise noch zweimal wiederholt und von den letzten zwei Kolben impfte ich mittels steriler graduierter Pipette die Röhren. Vier verschiedene Quantitäteu wurden von jeder ursprünglichen Erdprobe genommen und zwar $^1/_{10}$ mg, $^1/_{50}$ mg, $^1/_{100}$ mg und $^1/_{1000}$ mg. In jeder Reihe wurden 10 Parallelröhren geimpft, im ganzen 80 Röhren.

Dieses Experiment wurde am 46. Tage des oben angeführten Versuches (IV) begonnen. Die Teller wurden am 53. Tage auf Nitratstickstoff analysiert, mit den oben angegebenen Resultaten. Die Röhren wurden im Brutzimmer auf 30° gehalten und jeden Tag nachgesehen. Erst nach 3 Wochen, nachdem jede Gefahr einer nachträglich eintretenden Denitrifikation vorüber war, brach ich den Versuch ab. In untenstehender Tabelle sind die Resultate angeführt. In den Vertikalreihen entsprechen die Zahlen der Anzahl der Röhren, die eine Stickstoffentbindung durch Schaumbildung anzeigten.

Tabelle V.

Impfmenge	Kontrollerde	Erde mit 0,5 Proz. Dextrosezugabe
Tag des Versuches	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
$^1/_{10}$ mg	0 0 0 0 0 0 1 2 2 2	0 0 0 0 0 1 10 10 10 10
$^1/_{50}$ „	0 0 0 0 0 0 0 2 2 2	0 0 0 0 0 0 2 2 2 2
$^1/_{100}$ „	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 2 2 2 2
$^1/_{1000}$ „	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Nach diesen Resultaten waren die Denitrifikatoren sicherlich in der mit Dextrose behandelten Erde zahlreicher als in der Kontrollerde.

Daraus darf man wohl schließen, daß die oben erwähnte, scheinbar hemmende Wirkung der Dextrose nach längerer Versuchsdauer tatsächlich durch eine größere Denitrifikation zu erklären ist.

II. Einfluß der Feuchtigkeit auf die Nitrifikation, auf die Denitrifikation und auf die Wirkung der Dextrose im Boden.

Aus den oben angegebenen Versuchen sieht man deutlich, daß die Dextrose unter normalen Feuchtigkeitsverhältnissen eine sehr bedeutend begünstigende Wirkung auf die Nitrifikation ausübt. Zu untersuchen blieb noch, ob die Bodenfeuchtigkeit an sich erheblichen Einfluß einerseits auf die Nitrifikation und Denitrifikation, andererseits auf die Wirkung der Dextrose hat. Der Gedanke liegt sehr nahe, nach einem Vergleich der Resultate von Winogradsky und Omelianski mit denen von Wimmer und Bazarewski, die hemmende Wirkung organischer Substanzen zum größten Teil auf den geringeren Luftzutritt in Lösungen zurückzuführen. Unter diesen Umständen könnten einigermaßen gleich ungünstige Verhältnisse durch eine förmliche Ueberschwemmung des Bodens mit Wasser hervorgebracht werden. Um die Richtigkeit dieser Vermutung zu prüfen, wurde folgender Versuch angestellt: Ein Gemisch von Lehmboden und Sand (2:1) wurde bereitet und dessen Feuchtigkeit bestimmt, die ca. 10 Proz. betrug. 1000 mg dieses Gemisches wurden auf je 12 Teller gebracht. Die Feuchtigkeit von vier dieser Teller (a) wurde auf 10 Proz. gehalten, die der nächsten vier (b) bis zu 20 Proz. und die der letzten vier (c) bis zu 30 Proz., durch Zugabe von destilliertem Wasser erhöht. Jedem Teller wurde sodann 0,2 Proz. Ammoniumsulfat zugegeben. Je 2 Tellern von (a) (b) und (c) wurde 0,5 Proz. Dextrose beigefügt, die übrigen 6 dienten zur Kontrolle. Es ist zu bemerken, daß bei den Tellern mit 30 Proz. Wassergehalt das Wasser nicht ganz absorbiert wurde, sondern etwas oben darauf stehen blieb. Die Teller wurden im Brutzimmer auf ca. 25° C gestellt, und die Feuchtigkeit wurde durch tägliches Begießen wiederhergestellt. Ein ziemlich konstanter Verlust an Wasser von ca. 45 g pro Teller trat jeden Tag durch Verdunstung ein. Danach schwankte die Feuchtigkeit bei der ersten Reihe zwischen ca. 5,5 Proz. und 10 Proz., bei der zweiten Reihe zwischen ca. 16 Proz. und 20 Proz. und bei der dritten Reihe zwischen ca. 26,5 Proz. und 30 Proz. Sechs Teller wurden nach je 14 und 24 Tagen auf Nitratstickstoff untersucht. Die Ergebnisse werden in folgender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle VI (Analytische Belege, Analysen 10—11).

Wassergehalt des Bodens	A Nach 14 Tagen		B Nach 24 Tagen	
	Nitratstickstoff gefunden pro Kilo trockener Erde in mg		Nitratstickstoff gefunden pro Kilo trockener Erde in mg	
	N. Kontrolle	N. + 0,5 Proz. Dextrose	N. Kontrolle	N. + 0,5 Proz. Dextrose
5,5—10 Proz.	54,54	44,45	258,1	203,65
16 —20 „	173,71	369,42	432,7	380,77
26,5—30 „	116,12	27,95	285,94	149,50

Wenn wir die Resultate des ersten Teiles (A) betrachten, so sehen wir erstens, daß der Feuchtigkeitsgrad einen auffallend großen Einfluß auf

die Nitrifikation hatte. Wenn wir eine Feuchtigkeit von 16—20 Proz. als die optimale betrachten, finden wir bei einer Feuchtigkeit von 5,5—10 Proz. die Nitrifikation auf weniger als $^1/_3$, bei einer Feuchtigkeit von 26,5—30 Proz. auf etwa $^2/_3$ herabgedrückt. Bringen wir aber eine Korrektion für den schon im Boden vorhandenen Nitratstickstoff an, der nach den oben angeführten Zahlen einen Wert von ca. 15 mg pro Kilogramm haben würde, so finden wir den Unterschied noch auffallender. Dann bekommen wir für die Erde ohne Dextrosezusatz

	Nitrat N gebildet mg	in Prozenten
5,5—10 Proz. Feuchtigkeit	39,54	25,7
16 —20 „ „	153,71	100,0
26,5—30 „ „	101,12	65,8

Der Feuchtigkeitsgrad an sich hat also einen sehr großen Einfluß auf die Nitrifikation. Wenn wir uns jetzt der Wirkung der Dextrose unter diesen verschiedenen Feuchtigkeitsverhältnissen zuwenden, finden wir noch auffallendere Unterschiede. Während in der Dextroseerde bei einer Feuchtigkeit von 16—20 Proz. mehr als zweimal so viel Nitrat gefunden wurde, als in der Kontrollerde, wurde bei einer Feuchtigkeit von 26,5—30 Proz. nur ca. der vierte Teil vorgefunden. Wenn wir hier den Abzug für schon vorhandenen Nitratstickstoff machen, bekommen wir einen verschwindend kleinen Rest. Ja, wir können wohl sagen, daß hier die Dextrose die Nitrifikation so gut wie völlig unterdrückt hat. Dieses Resultat stimmt mit denen von Winogradsky und Omelianski überein. Bei der geringeren Feuchtigkeit von 6,5—10 Proz. finden wir nur eine verhältnismäßig sehr kleine nachteilige Wirkung der Dextrose.

Die nach 24 Tagen gewonnenen Resultate geben ein etwas anderes Bild. Hier scheint selbst bei einem Feuchtigkeitsgrad von 16—30 Proz. die Dextrosezugabe nachteilig gewirkt zu haben. Aber da in diesem Falle das Ammoniak schon verschwunden war, glaube ich auch hier annehmen zu müssen, daß nach dem Schlusse der Nitrifikation die Denitrifikatoren weitergearbeitet hatten, sonst würden wir am Ende der Nitrifikation annähernd gleiche Mengen Nitratstickstoff im Kontrollboden und Dextroseboden erwarten müssen. Bei den anderen Feuchtigkeitsgraden blieben die Verhältnisse zwischen Kontroll- und Dextroseerde ziemlich dieselben wie nach 14 Tagen; nur zeigte die Dextroseerde bei einem Feuchtigkeitsgrad von 26,5—30 Proz. eine ganz deutliche Nitrifikation, obgleich diese nur halb so groß wie diejenige der Kontrollerde war.

Gleichzeitig mit dem letztbeschriebenen Versuche wurde ein Versuch durchgeführt, um die Denitrifikationskraft der verschiedenen Proben zu ermitteln. Dafür wurden nach den Vorschriften von Remy[1]) und Löhnis[2]) Erlenmeyer-Kolben mit je 100 ccm einer Jensenschen Lösung beschickt und 3mal sterilisiert. Von jedem der nach 14 Tagen analysierten Teller wurden am Tage vor der Analyse 4 Proben von einem Gewichte von 10 g aseptisch genommen und in die Kolben eingebracht. 2 Kolben wurden als Kontrollen ungeimpft belassen. Nach 2-tägigem Stehen im Brutzimmer bei 35° wurde der noch unzerstörte Nitratstickstoff bestimmt. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zu sehen:

1) Remy, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 660.
2) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262 u. 890.

Tabelle VII (Analytische Belege, Analyse 12).

	Kontrollerde		Erde + 0,5 Proz. Dextrose	
Feuchtigkeitsgehalt der Erde	Zurückgebliebener Nitratstickstoff mg	Nitratstickstoff entbunden mg	Zurückgebliebener Nitratstickstoff mg	Nitratstickstoff entbunden mg
5,5—10 Proz.	1. 6,64	20,53	4,52	22,65
	2. 6,85	20,32	3,99	23,18
	3. 4,56	22,61	5,12	22,05
16,0—20 Proz.	1. 0,90	26,27	0,75	26,42
	2. 7,37	19,80	0,75	26,42
	3. 3,23	23,94	0,68	26,49
	4. 5,65	21,52	0,30	26,87
26,5—30 Proz.	1. 8,96	18,21	1,36	25,82
	2. 6,32	20,85	verschwunden	27,17
	3. 5,50	21,67	"	27,17

Wie sich hieraus ergibt, ging die Denitrifikation sehr rasch vor sich. Trotzdem ist bei den Böden mit 16—20 Proz. und 26,5—30 Proz. V[illegible] die stärkere Denitrifikationskraft der Dextroseerde nicht zu verkennen. Das ist sogar da der Fall, wo bei einem Wassergehalt von 16—20 Proz. der Nitratgehalt doppelt so groß ist wie in der Kontrollerde. Leider war die Denitrifikation bei den letzten beiden so weit vorgeschritten, daß ein Unterschied zwischen der Denitrifikationskraft der Dextroseerde mit 16—20 Proz. Wassergehalt und der der Dextroseerde mit 26,5—30 Proz. Wassergehalt kaum zum Vorschein kam. Doch dürfen wir annehmen, daß ein solcher Unterschied tatsächlich existiert. In den beiden letzten Kolben mit Dextroseerde von 26,5—30 Proz. Wassergehalt war das Nitrat schon ganz verschwunden.

Wenn wir auf die sämtlichen hier angeführten Versuche über den Einfluß der Dextrose auf die Nitrifikation im Boden zurückblicken, finden wir verschiedene sehr interessante Ergebnisse. Erstens steht es jetzt außer allem Zweifel, daß die Dextrose in Mengen, die nach Winogradsky und Omelianski (vergl. auch unten) in Nährlösungen die Nitrifikation vollständig unterdrücken, im Boden unter normalen physikalischen Verhältnissen (Feuchtigkeit und Wärme) durchaus nicht hemmend, sondern stark fördernd auf die Nitrifikation wirkt. Einige Tatsachen müssen aber in diesem Zusammenhang besonders betont werden. Erstens dürfen wir nicht vergessen, daß eine Zugabe von 0,5 Proz. Dextrose, auf Gesamterdegewicht berechnet, in Wirklichkeit einer viel größeren Konzentration entspricht. Wenn wir einen normalen Feuchtigkeitsgehalt des Bodens von 15—16 Proz. annehmen, so sehen wir, daß die Konzentration der Dextrose im Boden am Anfang mehr als 3 Proz. beträgt. Freilich dauert dieses Verhältnis nur ziemlich kurze Zeit an, da der Zucker durch die Tätigkeit der Bakterien zersetzt wird. Doch bleibt der Gegensatz zwischen den Vorgängen in Lösungen und im Boden immer noch bestehen. Daß es die physikalischen Bedingungen sind, welche die ausschlaggebende Rolle spielen, ersehen wir aus dem Versuche VI. Hier hat eine Annäherung an die physikalischen Verhältnisse, die in einer Lösung herrschen, die günstige und fördernde Wirkung der Dextrose in eine hemmende, sogar fast unterdrückende umgewandelt. Es scheint aus diesem Versuche ziemlich klar hervorzugehen, daß die große Menge der nitrifizierenden Bakterien im Boden

und deren Anpassung an das Leben bei Anwesenheit organischer Substanzen eine nebensächliche Rolle bei der günstigen Wirkung des Zuckers spielen. Worauf die günstige Wirkung des Zuckers beruht, ist aus diesem Versuche nicht zu entnehmen. Wir können erst nach Versuchen mit Reinkulturen dieser Frage nähertreten. Ich weise daher auf jenen Teil meiner Arbeit hin.

III. Der Einfluß anderer organischer Substanzen auf die Nitrifikation im Boden.

Nachdem gezeigt worden war, daß Dextrose eine begünstigende Wirkung auf die Nitrifikation im Boden ausübt, blieb noch zu untersuchen, was für eine Wirkung andere organische Substanzen haben. Zuerst wurde die Wirkung stickstofffreier organischer Substanzen geprüft und aus diesen Verbindungen Rohrzucker, Laktose, Glycerin, essigsaurer und buttersaurer Kalk gewählt. Teller mit 1500 g des oben angegebenen Gemisches (1000 g Bracherde und 500 g Sand) wurden präpariert. Alle wurden mit 0,2 Proz. $(NH_4)_2SO_4$ versetzt und die Teller dann folgendermaßen behandelt. 2 Teller wurden als Kontrolle benutzt und mit je 100 ccm destilliertem Wasser begossen. Je 2 Teller wurden mit 0,05 resp. 0,5 Proz. Rohrzucker, 0,1 resp. 0,5 resp. 1,0 Proz. Glycerin, 0,5 resp. 1,5 Proz. essigsaurem Kalk, in jedem Falle in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst, begossen. Die Teller wurden im Brutzimmer bei der günstigsten Temperatur von 25° gehalten, jeden Tag mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Gewicht gebracht und nach 14 resp. 28 Tagen auf Nitratstickstoff analysiert. Hier folgen die Resultate.

Tabelle VIII (Analytische Belege, Analyse 13—14).

Ammoniak(N)-Zugabe — Zugaben von organischen Substanzen	An Nitratstickstoff gebildeter N pro Kilo trockener Erde nach 14 Tagen	28 Tagen
N. Kontrolle	178,08	254,47
N. + 0,05 Proz. Rohrzucker	197,60	252,24
N. + 0,5 „ „	152,00	247,59
N. + 0,1 „ Glycerin	193,42	287,26
N. + 0,5 „ „	184,21	236,44
N. + 1,0 „ „	81,82	220,90
N. + 0,5 „ essigsaurer Kalk	128,62	225,93
N. + 1,5 „ „ „	84,78	206,6

Nach diesen Zahlen zu urteilen, ist eine günstige Wirkung fast ausgeblieben. Allerdings scheinen Zugaben von 0,05 Proz. Rohrzucker und 0,1 Proz. Glycerin einen kleinen fördernden Einfluß gehabt zu haben, der aber beim Rohrzucker nach 28 Tagen verwischt wird. Wenn es die Zersetzungsprodukte der Dextrose wären, die für den begünstigenden Einfluß verantwortlich sind, würde man eine einigermaßen ähnliche Wirkung bei dem Rohrzucker erwarten. Eine ähnliche Wirkung ist tatsächlich vorhanden, nur nicht so auffällig. Dies ist wahrscheinlich auf die durch die Tätigkeit anderer Bakterien bewirkte Inversion des Rohrzuckers zurückzuführen. Die anscheinend günstige Wirkung von 0,1 Proz. Glycerin muß höchstwahrscheinlich auf durch Mikroorganismen gebildete Zersetzungsprodukte zurückgeführt werden, doch ist der Ausschlag überhaupt so klein, daß man daraus schwerlich auf eine günstige Wirkung der betreffenden Substanz schließen kann.

Ich benutzte auch essigsauren Kalk in diesem Versuche, da es wohl möglich scheint, daß der schon festgestellte fördernde Einfluß der Dextrose (siehe p. 407, 408, 411) auf die Wirkung ihrer durch niedere Bodenorganismen gebildeten Zersetzungsprodukte zurückzuführen wäre. Da unter diesen die organischen Säuren in erster Linie in Betracht kommen, so wäre zu erwarten, daß, wenn diese Annahme richtig wäre, eine günstige Wirkung hier eintreten müßte. Ich wählte essigsauren Kalk anstatt des von Winogradsky und Omelianski angewendeten essigsauren Natrons, da der erstere der Verbindung der Essigsäure im Boden etwas besser entsprechen dürfte. Doch, wie oben zu sehen ist, tritt eher eine hemmende als eine fördernde Wirkung selbst bei 0,5 Proz. essigsaurem Kalk ein.

Weiter wurden aus dem gleichen Grunde Versuche mit verschiedenen Mengen buttersaurem Kalk wie auch Laktose angesetzt. Obgleich ich hier mit einer Menge von 0,05 Proz. buttersaurem Kalk anfing und bis 0,5 Proz. stieg, konnte ich in keinem Falle irgend eine Wirkung auf die Nitrifikation feststellen. Dasselbe gilt auch für die Laktose, die ich in Mengen von 0,05, 0,2 und 0,5 Proz. anwendete; höchstens bei einer Konzentration von 0,2 Proz. war eine sehr unbedeutende begünstigende Wirkung zu bemerken. In diesen Versuchen benutzte ich wieder den kleineren Teller, worauf ich 400 g desselben Gemisches brachte; die sonstige Behandlung war dieselbe wie bei den schon angeführten Versuchen. Nach 3 Wochen wurden die 3 Versuche unterbrochen und einer Nitratanalyse unterworfen, aus welcher die folgenden Zahlen gewonnen wurden.

Tabelle IX (Analytische Belege, Analysen 15—16).

Ammoniak(N)-Zugabe — Zugabe von organischen Substanzen	An Nitratstickstoff pro kg trockener Erde gebildet nach 3 Wochen in mg
N. Kontrolle	162,9
N. + 0,05 Proz. Laktose	166,5
N. + 0,2 „ „	186,0
N. + 0,5 „ „	155,3
N. Kontrolle	182,0
N. + 0,05 Proz. buttersaurer Kalk	185,6
N. + 0,2 „ „ „	196,7
N, + 0,5 „ „ „	185,6

Aus dieser ganzen Versuchsreihe ist zu ersehen, daß keine einzige der untersuchten Substanzen eine der Dextrose annähernd ähnliche Wirkung gezeigt hat. Es ist ja möglich, daß die für die Wirkung günstigen Bedingungen nicht getroffen wurden, doch ist das ziemlich unwahrscheinlich. Dies alles deutet darauf hin, daß die Wirkung der Dextrose etwas mehr als eine den nitrifizierenden Bakterien gegenüber durch ihre Giftigkeit bedingte Reizwirkung sein dürfte. Wenn solch eine Reizwirkung vorläge, würden wir eine ähnliche Wirkung bei den anderen untersuchten Verbindungen erwarten können; diese finden wir aber nicht.

Nach diesen Versuchen mit stickstofffreien organischen Verbindungen wurde auch ein Versuch mit stickstoffhaltigen angesetzt und zwar mit Pepton und Harnstoff. Wie schon oben erwähnt, hat außer Wino-

gradsky und Omelianski auch Wimmer[1]) Versuche über den Einfluß des Peptons auf die Nitrifikation in Reinkulturen des Nitratbildners gemacht, wobei er fand, daß die hemmende Wirkung in Sandkulturen viel weniger hervortrat als in flüssigen Kulturen. Von vornherein war es wenig wahrscheinlich, daß stickstoffhaltige Substanzen irgendwie begünstigend wirken konnten. In meinen Versuchen habe ich ziemlich große Mengen benutzt, da ich glaubte, daß bei schwachen Konzentrationen eine ziemlich rasche Bildung von Ammoniak eintreten könnte und die Resultate so verschleiern dürfte. Wahrscheinlich waren die Konzentrationen viel zu hoch, doch der Vollständigkeit wegen werden die Resultate hier angeführt.

Teller mit 1000 g des beschriebenen Gemisches wurden mit 0,2 Proz. Ammoniumsulfat in 100 ccm Wasser und mit Harnstoff (0,75 und 2,25 Proz.) und Pepton (0,5 und 2,0 Proz.) in 100 ccm Wasser begossen. Zwei ohne Zugabe von organischer Substanz dienten als Kontrolle. Nitratanalysen wurden nach 19 bezw. 26 Tagen gemacht. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle X (Analytische Belege, Analysen 17—18).

	An Nitratstickstoff in mg pro kg trockener Erde gefunden nach 19 Tagen	An Nitratstickstoff in mg pro kg trockener Erde gefunden nach 26 Tagen
N. Kontrolle	152,13	271,5
N. + 0,75 Proz. Harnstoff	30,06	15,04
N. + 2,25 „ „	22,94	9,85
N. + 0,5 „ Pepton	62,01	54,80
N. + 2,0 „ „	9,10	23,15

Hier sehen wir selbst bei den geringeren Konzentrationen eine fast vollständige Unterdrückung der Nitrifikation.

Versuche mit Reinkulturen.

Nachdem ich festgestellt, daß Dextrose einen ganz bedeutend fördernden Einfluß auf die Nitrifikation im Boden hat, wandte ich mich zu Versuchen mit Reinkulturen. Wie oben erwähnt, sind Wimmer und Bazarewski die einzigen, die den Einfluß organischer Stoffe auf reine oder annähernd reine Kulturen dieser Bakterien in einem dem Boden ähnlichen Substrate untersucht haben. Winogradsky hat zwar Kulturen in steriler Erde, Boulanger und Massol auf verschiedenen Substraten, wie Schlacken, Sand etc., gezüchtet, aber in beiden Fällen für ganz andere Zwecke. Wimmer benutzte nur den Nitratbildner, welcher übrigens noch nicht ganz rein war, als er seinen Versuch machte (vide a. a. O. p. 159). Bazarewski arbeitete nur mit einer Mischkultur der beiden Bakterien, die er aus dem Winogradskyschen Laboratorium bekam. Er fand für diese Mischkultur in sterilem Sand einen günstigen Einfluß kleiner Mengen Dextrose. In nur einem Versuche aber war das Wachstum bedeutend genug, um einen sicheren Aufschluß über die Wirkung der Dextrose (bei Zugabe von 0,17 Proz.) zu geben. Weiter hat er in jedem seiner beiden Versuche nur einen Kolben als Kontrolle und je einen Kolben für die verschiedenen Mengen

1) Wimmer benutzte in seinen Versuchen Pepton in Konzentrationen von 0,1, 0,2 und 0,4 Proz. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1904. p. 161.)

Dextrose benutzt. Als Beweis der Reinheit benutzte er nur die Ueberimpfung in Bouillon und danach muß, wie nächstens gezeigt wird, ein Zweifel darüber bleiben, ob er mit wirklich reinen Kulturen gearbeitet hat oder nicht. Nach seiner Meinung sollen Zugaben von Dextrose bis zu 0,75 Proz. begünstigend auf die Nitrifikation in Mischkulturen wirken.

IV. Ueber die Reinzucht des Nitratbildners.

Die Kulturen des Nitrit- und Nitratbildners, die als Ausgangsmaterial für die folgenden Versuche benutzt wurden, habe ich dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Omelianski aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Winogradsky bekommen. Von diesen, in Lösung oder auf Agar erhaltenen Kulturen machte ich mit der größten Sorgfalt Ueberimpfungen in sterile Nährlösung bezw. Impfstriche auf schrägem Agar. Zu gleicher Zeit wurden die Kulturen mikroskopisch untersucht, wobei ich die von Winogradsky vorgeschlagene differentielle Färbungsmethode mit Gentianaviolett anwendete. Auch wurden Impfungen in Bouillon gemacht. Nach allen gegebenen Kriterien erwiesen sich die Kulturen wie auch ihre Nachfolger als rein, und deshalb wurden damit verschiedene Versuche angestellt. In den ersten 3 oder 4 Versuchen verließ ich mich auf die Ueberimpfung in Bouillon als Beweis der Reinheit. Wo, wie in meinen Versuchen, man sterilisierte Erde bezw. Sand benutzt, ist ja eine mikroskopische Nachprüfung ausgeschlossen. Später aber, als ich einige Flüssigkeitskulturen sehr sorgfältig untersuchte, nahm ich eine Verunreinigung wahr, trotzdem die Ueberimpfungen in Bouillon absolut kein Wachstum ergeben hatten. Die verunreinigende Form war ein Micrococcus, der nur sehr spärlich in den flüssigen Kulturen zu finden war; nur nach längerem und sorgfältigem Suchen konnte er gefunden werden. Nach dieser Entdeckung musterte ich meine sämtlichen anscheinend reinen Kulturen sehr sorgfältig, und fand in allen diese Form. Daraus schloß ich, daß ich es hier nicht mit einer aus der Luft hineingeratenen Form zu tun hatte, sondern mit einer ursprünglichen Verunreinigung, die mir bei den ersten mikroskopischen Untersuchungen entgangen war.

Wimmer hat ähnliche Schwierigkeiten bei seinen Versuchen, den Nitratbildner rein zu züchten, gefunden. Eine Verunreinigung seiner Kulturen wuchs auch nicht in seiner ersten Bouillon, wohl aber in einer zweiten, in gleicher Weise hergestellten. Er sieht die Erklärung dieses Unterschiedes in einer verschiedenen Alkalinität der Bouillon. Die Bouillon, in welcher die verunreinigende Form wuchs, soll etwas schwächer alkalisch gewesen sein, obgleich der Unterschied sehr gering und mit empfindlichem Lackmuspapier kaum nachzuweisen war.

Die von mir benutzte Bouillon war so schwach alkalisch, daß sie mit empfindlichem Lackmuspapier kaum eine Reaktion ergab, deshalb glaube ich nicht, daß die Alkalinität hier der hemmende Faktor war. Viel eher glaube ich annehmen zu müssen, daß die Bouillon keine zusagende Nährlösung für die betreffende Form war. Wenn, wie ich glaube, diese Form eine der hartnäckigen Begleiter der Nitratbakterien ist, die auf Verhältnisse im Boden angepaßt sind, sollte uns ihre Wachstumsunfähigkeit in Bouillon gar nicht wundern. Wie schon aus Untersuchungen von Wasser oder Boden bekannt ist, wachsen bei weitem nicht alle diese Standorte bewohnenden Formen in Bouillon bezw. auf Bouillonagar oder -gelatine.

Aus diesen Beobachtungen schließe ich, daß Bouillon kein allgemein zuverlässiges Mittel ist, um die Reinheit einer Nitrat- bezw. Nitritkultur zu beweisen. Winogradskys diesbezügliche Vorschrift lautet: „Um Gewißheit darüber (d. h. über die Reinheit der Nitratkultur) zu erlangen, beimpft man Bouillon mit einigen Tropfen nitratierter Flüssigkeit; die Bouillon darf sich dadurch in der Folge nicht verändern.“

Wie meine Beobachtungen gezeigt haben, ist diese Vorschrift nicht ausreichend. Es ist sehr zu bezweifeln, ob es überhaupt irgend einen Nährboden bezw. Nährlösung gibt, die ganz sicheren Aufschluß über die Reinheit geben kann. Man muß es eben ausprobieren. Vorläufig aber dürfte Heyden-Agar ein viel sichereres Mittel als Bouillon sein. Hesse und Niedner[1]) fanden, daß auf Heyden-Agar aus Wasser durchschnittlich 20mal soviel Kolonieen wuchsen als in den üblichen Nährböden (d. h. in Bouillonagar und Bouillongelatine). Deshalb kam ich auf den Gedanken, dasselbe Substrat in diesem Falle zu verwenden.

Nach dieser Entdeckung goß ich sofort von den Kulturen Nitritagarplatten und fand, daß die Verunreinigung ziemlich bald (nach 5 oder 6 Tagen) kleine, doch im Verhältnis zu denen des Nitratbildners, beträchtlich große Kolonieen entwickelte. Ein ähnliches Wachstum fand auf Heyden-Agarplatten statt. Um Reinkulturen des Nitratbildners zu bekommen, impfte ich aus den angewachsenen Nitratbildnerkolonieen in Nitritnährlösung. Nachdem in den Kulturen das Nitrit verschwunden war, prüfte ich die Kulturen auf Reinheit durch (a) Impfung in Bouillon, (b) Gießen von Heyden-Agarplatten, (c) Gießen von Nitritagarplatten, (d) mikroskopische Untersuchung. Die Kulturen, die ich für rein halte, und die als Ausgangsmaterial für meine späteren Versuche dienten, zeigten sich nach allen diesen Erfahrungen als rein, d. h. (a) sie ergaben in Bouillon kein Wachstum (b), auf Heyden-Agarplatten wurde nichts gefunden außer höchstens ein paar Schimmelpilzen (c), mikroskopisch waren die Kulturen einheitlich, sowohl in gefärbten, wie auch in ungefärbten Präparaten. Weitere Beweise konnte ich kaum bringen.

Von den unten angeführten Versuchen sind nur die letzten zwei in Sandkulturen mit diesen sicherlich reinen Kulturen gemacht worden. Da aber die Resultate, die ich in diesen neuen Versuchen bekam, mit den anderen ziemlich gut übereinstimmen, dürfen auch diese ersten ihren Wert haben. Deshalb werden sie auch hier angeführt. Außerdem war der letzte von den unten angeführten Durchlüftungsversuchen mit einer ähnlich gereinigten Kultur als Ausgangsmaterial gemacht.

V. Einfluß der Dextrose auf die Tätigkeit des Nitratbildners.

Winogradsky und Omelianski fanden in ihren Untersuchungen den Nitratbildner viel weniger empfindlich organischen Substanzen gegenüber, als den Nitritbildner. Während Dextrose schon bei einer Konzentration von 0,025 Proz. die Nitritbildung hemmte, übte sie auf den Nitratbildner erst bei einer Konzentration von 0,05 Proz. einen ähnlichen Einfluß aus. Etwas ähnliches gilt im allgemeinen für die anderen geprüften organischen Verbindungen. Wimmer hat auch für seine Sandkulturen den Nitratbildner gewählt. Wie oben erwähnt,

1) Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. p. 454; Ref. Kochs Jahresber. Bd. IX. 1900. p. 22. Hier die Vorschriften für dessen Herstellung.

fand er eine viel geringere Verzögerung, wenn er Sand als Substrat benutzte.

Meine Versuche über den Einfluß der Dextrose auf die Nitratbildung lassen sich in zwei Reihen teilen. In der ersten Reihe stehen ein paar Versuche, in denen ich sterilisierte Erde benutzte, in der zweiten Reihe einige, in denen mit Nitritnährlösung durchtränkter Sand angewandt wurde.

Versuche mit Nitratkulturen in steriler Erde.

In dem ersten Versuche wurde ein Gemisch von Erde und Sand (2 : 1) mit 10 Proz. Wassergehalt genommen. Kolben mit 300 g dieses Gemisches wurden nach einer Zugabe von 30 ccm 0,5 Proz. Kaliumnitrit 1 Stunde auf 120° im Autoklaven sterilisiert. Dann setzte ich dem Kontrollkolben 10 ccm destilliertes Wasser zu, den anderen 10 ccm von je zwei Dextroselösungen, die genügend Dextrose enthielten, um die Konzentration in der Bodenflüssigkeit auf 0,05 Proz. bezw. 0,2 Proz. zu bringen. Die Dextrose wurde nicht am Anfang zugesetzt, da, wie bekannt, sie beim Erhitzen auf 120° zum Teil zerstört wird. Nach dreimaligem Sterilisieren $^1/_2$ Stunde auf 100° wurde jeder Kolben mit 2 ccm einer Nitratbildnerkultur geimpft, in das Brutzimmer gestellt und 14 Tage auf 25° gehalten. Da sie nicht sofort untersucht werden konnten, wurden die Kulturen dann in ein kaltes Zimmer gestellt (Temperatur ca 10°) und erst nach weiteren 14 Tagen auf Nitrat untersucht, was folgendermaßen geschah.

Durch Zusatz von destilliertem Wasser wurden die Kolben auf ihr ursprüngliches Gewicht gebracht. Da jeder Kolben jetzt 70 ccm Flüssigkeit enthielt, gab ich noch 230 ccm Wasser zu, um die Gesamtflüssigkeitsmenge auf 300 ccm zu bringen. Nach mehrstündigem, von wiederholtem Schütteln begleiteten Ausziehen wurde der Auszug abfiltriert.

Für die getrennte Bestimmung des Nitrates und Nitrites ist die Methode von Meisenheimer und Heim[1]) angewendet worden. Diese Methode, die eine Modifikation der Müntzschen[2]) ist, besteht in einer Reduktion des Nitrites durch Jodkalium und schwache Salzsäure und nachheriger Reduktion des Nitrates durch Eisenchlorür. Zuerst wird die Luft durch Kohlensäure verdrängt ($^1/_4$-stündiges Durchleiten eines starken Kohlensäurestromes genügt); dann werden 10 ccm einer 5-proz. Jodkaliumlösung mittels Tropftrichter zugegeben, und nachher läßt man ca. 10 ccm schwache Salzsäure tropfenweise zufließen. Nach langsamem Erhitzen mit einem Mikrobrenner bis zum Sieden wird der Rest des aus dem Nitrit gebildeten Stickoxyds mit Kohlensäure verdrängt. Dann läßt man 15—20 ccm einer konzentrierten Eisenchlorürlösung zufließen und treibt durch starkes Kochen das aus dem Nitrat gebildete Stickoxyd über. Das Kochen muß fast bis zum Eintrocknen fortgesetzt werden. Das Stickoxyd wird in einem Eudiometer über 12-proz. Natronlauge aufgefangen.

Zu gleicher Zeit mit dem geimpften Kolben wurde auch ein ungeimpfter Kolben auf Nitrat untersucht. Die unten angegebenen Zahlen gelten nur für diejenigen Kolben, die beim Ueberimpfen in Bouillon kein Wachstum ergaben.

---

1) Meisenheimer und Heim, Berichte der Chem. Ges. 1905.

2) Siehe Boulanger et Massol, Ann. Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 181 für die Beschreibung dieser Methode.

Tabelle XI (Analytische Belege Analyse 19).

Nitrit (N.) und Dextrose (D.)	An Nitratstickstoff pro Kolben gefunden in mg	Nitratstickstoff nach Abzug des am Anfang vorhandenen Nitrat N
1. N. Kontrolle ungeimpft	9,00	—
2. N. Kontrolle	15,12	6,12
3. N. Kontrolle	13,18	4,18
4. N. + 0,05 Proz. D.	24,12	15,12
5. N. + 0,05 „ „	23,52	14,52
6. N. + 0,2 „ „	18,12	9,12

Aus diesen Zahlen ersieht man einen erstaunlich großen fördernden Einfluß der Zugabe von 0,05 Proz. Dextrose. Absolut kein Zweifel kann darüber bestehen, daß die Dextrose in diesem Falle begünstigend gewirkt hat. Auch bei einer Zugabe von 0,2 Proz. Dextrose ist eine kleine Förderung zu ersehen. Zu gleicher Zeit wurden die Auszüge mit Fehlingscher Lösung auf Dextrose geprüft. In keinem Falle war eine Spur nachweisbar. Wie schon im hiesigen landwirtschaftlich bakteriologischen Institut[1]) konstatiert worden ist, ist ein vollständiges Ausziehen der Dextrose mit Wasser aus Boden unmöglich, daher könnte man annehmen, daß hier der Zucker durch die Bodenpartikelchen festgehalten würde. Dieser Einwand ist aber nicht stichhaltig, da Auszüge von ungeimpften mit Dextrose behandelten Kolben ganz gute Reaktionen mit Fehlingscher Lösung zeigten. Da aber, wie oben angegeben, ein in Bouillon nicht wachsender Micrococcus in Kulturen gefunden wurde, konnte man das Verschwinden des Zuckers durch ein mögliches Vorhandensein dieser Form erklären. Selbst wenn dies der Fall wäre, so würde eine fördernde Wirkung der Dextrose nicht dadurch zu erklären sein. In jedem Falle bleibt die günstige Wirkung erwiesen, nur geht aus diesem Versuche nicht klar hervor, wie die Dextrose gewirkt hat. Ja, die Möglichkeit bleibt noch, daß ein Zersetzungsprodukt der Dextrose hier die wichtigste Rolle gespielt hat. Nach den Versuchen im Boden ist dies aber höchst unwahrscheinlich.

(Schluß folgt.)

Gewinnung keimarmer Milch.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **W. Kuntze.**

In einer früheren Arbeit (1) habe ich versucht, die praktischen Gesichtspunkte darzulegen, nach welchen sich die Einrichtung eines auf aseptischer Grundlage beruhenden Molkereibetriebes zu gestalten hat. Es wurde an jener Stelle bereits berichtet, daß es unter den geschilderten günstigen Verhältnissen gelang, eine recht keimarme Milch zu erzielen. Eingehendere Beschäftigung mit der vorliegenden Frage, sowie

1) Journal f. Landw. 1907. Koch, Litzendorff, Krull und Alves.

das Studium der einschlägigen Litteratur, insbesondere aber die Arbeit von Willem, Miele u. Minne (2), bestärkten mich in der Ueberzeugung, daß es bei der Gewinnung keimarmer Milch neben größter Reinlichkeit im Betriebe, geeigneter Fütterung und Verwendung nur steriler Gefäße in erster Linie auf die Tauglichkeit der für diesen Zweck bestimmten Kühe ankommt.

Wenn man nämlich die bisher veröffentlichten Ergebnisse der von verschiedenen Forschern angestellten aseptischen Melkversuche überblickt, so muß auffallen, daß die Keimmengen der selbst unter peinlichsten Vorsichtsmaßregeln gewonnenen Milch immer noch ziemlich bedeutenden Schwankungen unterworfen sind. Von den zahlreichen Mitteilungen, welche sich hierauf beziehen, greife ich nur einige heraus, so fand Lux (3) bei einzelnen Kühen

Anfang des Gemelkes	im Minimum 97,	im Maximum	6789	Keime pro ccm
Ende „ „	„ „ 0,	„ „	5556	„ „ „

Kolle (4) erhielt während einer 3 Monate dauernden Versuchsreihe mit Kühen der Bolleschen Meierei in Berlin, welche außerhalb des Stalles in besonderen staubfreien Räumen gemolken wurden unter Beobachtung möglichster Asepsis:

im Minimum (unter 43 Bestimmungen)	am 29. März	28	Keime pro ccm
im Maximum „ „ „	„ 18. Mai	15 000	„ „ „
nahezu 33 Proz. seiner Versuche ergaben	unter	300	Keime pro ccm
„ 50 „ „ „ „	„	500	„ „ „
und 4.7 „ „ „ „	über	700—8000	„ „ „

Es ist das Verdienst von Willem und Miele, durch eingehende Versuche nachgewiesen zu haben, daß insbesondere die mit Streptokokken (Streptococcus agalactiae Adametz, s. Str. agalactiae contagiosae Kitt, Str. mastitidis sporadicae Guillebeau, Str. mast. epidemicae Guill. „Galtcoccus“, welcher von Lehmann und Neumann[1]) als verwandte Form des Streptococcus acidi lactici des gemeinsten Milchsäureerregers aufgefaßt wird) infizierten Kühe für aseptische Milchgewinnung untauglich sind und es dürfte bei der großen Verbreitung der Mastitis, deren leichtere Fälle sich der oberflächlichen tierärztlichen Untersuchung nur zu leicht entziehen (5), wohl mit einiger Sicherheit anzunehmen sein, daß die Ursache der großen Schwankungen des Keimgehalts der von anderen Forschern bei früheren Versuchen aseptisch gewonnenen Milch im wesentlichen in der Nichtbeachtung dieses Umstandes zu suchen ist, sowie auch mit darin, daß die Euter der untersuchten Kühe nicht immer frei von Bakterien beherbergenden kleineren Hautausschlägen gewesen sind.

Da nunmehr, nach Einführung der Trommsdorffschen Milchschleuderprobe, die Möglichkeit gegeben ist, die mastitisverdächtigen Kühe leichter zu erkennen, so muß es, wenn auch sonst auf rationelle Pflege der Tiere und ihres Euters geachtet wird, wodurch die Hautausschläge sehr zurückgedrängt werden können — letztere dürften insbesondere in unpassender Fütterung, und zwar solcher, welche eine übermäßig vermehrte Kotabsonderung bedingt, ihre Ursache haben — in der Folge möglich sein, auch eine verhältnismäßig keimarme Durchschnittsmilch mehrerer Kühe zu erlangen, wofern die Auffanggefäße nur sicher steril sind und der Melkprozeß, den allgemeinen Anforderungen eines

1) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß d. Bakteriologie. 1907. p. 180.

Musterstalles entsprechend, unter Beobachtung einiger Vorsichtsmaßregeln ausgeführt wird.

Diese Erwägungen bildeten die Veranlassung zu den nachstehend mitgeteilten Versuchen, zu welchen die Kühe des Rassenstalles vom Landwirtschaftlichen Institut der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt wurden. Ein besonderer Melkraum, wie ihn Hempel (6), Kolle, besonders aber Willem und Minne für notwendig hielten, um ein möglichst keimarmes Produkt zu erreichen, war jedoch nicht zu beschaffen, auch wurde hauptsächlich aus dem Grunde davon abgesehen, die Kühe außerhalb des Stalles zu melken, weil die Art der Versuchsanstellung sich den gewöhnlichen, in der Praxis gegebenen Verhältnissen nähern sollte, soweit als irgend möglich war. Es wurde die Frage aufgeworfen, ob es nur unter Voraussetzung eines musterhaft eingerichteten und geleiteten Stalles möglich sein würde, genügend keimarme Milch zu erzielen. Die Anlage besonderer Melkräume, wie in meiner Eingangs erwähnten Arbeit beschrieben, erfordert ziemlich bedeutende Kapitalaufwendungen, andererseits drängte sich mir bei meinen Versuchen die Ueberzeugung auf, daß der durch Benutzung solcher Räume erzielte Gewinn an Asepsis auf die Dauer nicht so erheblich sein kann, wie vielleicht von den genannten Autoren angenommen wird. Dies könnte höchstens unter Umständen gelten, wenn die vorhandenen Stallanlagen schon an und für sich so ungünstig sind, wie sie selbst im Interesse einer hygienischen Milcherzeugung und im Interesse des Gesundheitszustandes der Tiere nicht zu wünschen sind. Man lege sich doch nur die Frage vor, ob einige sichere Aussicht besteht, einen Raum, welcher zweimal während des Tages von 20 selbst peinlich gesäuberten Kühen betreten wird, wobei Kotabsonderungen unvermeidlich sind, trotz aller Reinlichkeitsmaßregeln auch nur annähernd so aseptisch zu erhalten, wie es beispielsweise in den Operationsräumen klinischer Institute erreicht werden kann. In Anbetracht des Umstandes, daß die gegenwärtig in den Handel gebrachte Vorzugsmilch (bez. Leipzig vergl. die später mitgeteilten Resultate) im allgemeinen immer noch verhältnismäßig keimreich ist, erscheint es zunächst auch noch ziemlich belanglos, ob eine Milch, sagen wir bis zu 300 Keime enthält, wie bei den Versuchen von Willem und Minne, oder ob der Keimgehalt drei- oder selbst vierfach so hoch ist, vorausgesetzt, daß dies Plus nur durch Saprophyten harmloser Natur, welche keine Verschlechterung der Milch bedingen, verursacht wird, und daß vor allem die weitere Behandlung und Pflege der Milch nach dem Melken eine sachgemäße und zweckentsprechende ist.

Auf eine besondere Beschreibung des Rassenstalles, in welchem die zum Versuch benutzten Tiere untergebracht waren, muß verzichtet werden, es sei nur hervorgehoben, daß die Standbreite für die einzelnen Kühe besonders reichlich bemessen ist. Die Jaucherinnen sind überdeckt, ebenso der abseits des Stalles nach Art einer Aschengrube angelegte Dungbehälter, aus welchem der Dünger täglich nach der Versuchswirtschaft abgefahren wird. Durch diese Anlagen, auch durch eine gut arbeitende Ventilation, wird die Fliegenplage während des Sommers sehr eingeschränkt. Für die Vernichtung dieser Insekten wird übrigens auch durch Aufhängen von Leimdüten in reichlicher Zahl nach Möglichkeit gesorgt, so werden die Vorbedingungen für gründliche Reinlichkeit in hohem Maße erreicht.

Bereits seit längerer Zeit waren auf Veranlassung des Herrn Geheimrats Kirchner Versuche eingeleitet worden, um zu ermitteln, ob

sich der Keimgehalt der Institutsmilch durch eine von den neuerdings empfohlenen Maßnahmen (7) wesentlich verringern läßt. Die Ergebnisse dieser, von Herrn Privatdozent Dr. Löhnis angestellten Versuche mögen deshalb hier zuerst Platz finden, weil der Vergleich mit dem später von mir befolgten System beschränkter Asepsis, aber unter Verwendung steriler Gefäße, sehr deutlich zu Gunsten des letzteren Verfahrens spricht.

Versuchsreihe A.

Keimzahl der nach gewöhnlicher Art ermolkenen Milch bei Trockenfütterung.

Mischmilch von 3 Kühen, Proben von der Abendmilch. Je 3 Parallelen mit $^{1}/_{10}$, $^{1}/_{100}$, $^{1}/_{1000}$ ccm Milch gegossen. Beobachtungsdauer 10 Tage bei 20°.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Durchschnitt pro ccm Milchserumgelatine
1906 2. Mai	10 025	6 713
3. „	9 350	6 453
4. „ (in Flasche gefüllt)	9 688	27 417
in der Milch im Mittel:	9 688	6 538
in der Flasche	30 798	20 834
Erhöhung durch Einfüllen	317,81 Proz.	316,49 Proz.

Versuchsreihe B.

Grünfütterung, sonst wie oben.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Durchschnitt pro ccm Milchserumgelatine
4. Mai (konnte nur 5 Tage lang gezählt werden, infolge starker Verflüssigung)	ca. 900 000	ca. 900 000

Diese Probe wurde unter ungünstigen Umständen entnommen, es herrschte viel Unruhe im Stalle, die Melkerin berührte das mit Kot beschmutzte Tier mit der Hand.

Proben unter normalen Umständen genommen:

15. Mai	29 380	(gegen Trockenfütterung + 302,23 Proz.)	13 910 (+ 211,30 Proz.)
16. „	18 263	(„ „ + 188,51 „	8 340 (+ 126,70 „)
Mittel:	23 822	= (+ 245,37 Proz.)	11 125 (+ 169 „)

Versuchsreihe C.

Die Milch sollte möglichst sauber gemolken werden.

Grünfütterung, Mischmilch von 3 Kühen, Proben von der Abendmilch.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Durchschnitt pro ccm Milchserumgelatine
21. Mai	11 300	11 393
22. „	4 503	3 953
Mittel	7 901	7 673

Auf Fleischgelatine vorherrschend verflüssigende Keime, besonders Fluorescens und Proteus. Auf Milchgelatine viel Coli. Am 22. Mai außerdem sehr viel Schimmelpilze. (Es wurde an diesem Tage gleichzeitig mit dem Melken, bezw. kurz vorher, Grünfutter vorgelegt.)

Versuchsreihe D.

Unter Benutzung des Königsförder Melkeimers (8).

Grünfütterung. Mischmilch von 3 Kühen.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
14. Juni	22 010	17 510
15. „	5 840	3 603
16. „	15 080	15 140

(Im gewöhnlichen Melkeimer bei Grünfütterung Versuch B und C 4 503—29 380 3 953—13 910)

Versuchsreihe E.

Mit Euterbeutel nach Backhaus (9) und Königsförder Melkeimer.

Grünfütterung. Mischmilch von 3 Kühen.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
2. Juli	867	510
3. „ (Wiederholt benutzte Formalinlösung)	20 047	2 130
4. „	49 567	48 367

Am 4. Juli wurden zwar sterilisierte Tücher und frisch bereitete Formalinlösung benutzt, aber die Tiere waren infolge Verfütterung jungen Klees nicht so reinlich wie sonst, die Melkerin hatte sich beim Schwanzanbinden die Hände infiziert.

Versuchsreihe F.

Kühe geputzt, im Freien gemolken unter Benutzung des gewöhnlichen Melkeimers.

Grünfütterung. Mischmilch von 3 Kühen.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
16. Juli	14 090	7 710
17. „	25 190	10 330
18. „	56 503	22 970

Am 17. und 18. Juli herrschte infolge starken Windes während des Melkens viel Staub.

Versuchsreihe G.

Mit Euterbeutel, Königsförder Melkeimer. Zur Desinfektion diente Festoformlösung.

Grünfütterung. Mischmilch von 3 Kühen.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
3. Juli	7 383	2 880
1. August	2 623	630
2. „	35 570	26 150

Am 2. August herrschte viel Unruhe im Stalle.

Versuchsreihe H.

Mischmilch dreier Kühe in gewöhnlicher Weise gemolken, aus dem Milchsammelgefäß ungekühlt in eine im Trockenschrank bei 160—170° sterilisierte Glasflasche gefüllt. Grünfütterung.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
3. September	137 387	123 927
4. „	42 597	32 570
5. „	53 077	51 530

Versuchsreihe I.

Mischmilch dreier Kühe, welche vor dem Melken gründlich ge-

waschen wurden, das Euter wurde mit 2 Prom. Formalinlösung abgewischt, außerhalb des Stalles gemolken, die Melkeimer waren in heißem Wasser ausgebrüht. Grünfütterung.

	Durchschnitt pro ccm Fleischpeptongelatine	Milchserumgelatine
20. September	2800	913
21. „	1463	1893
22. „	2603	2366

Es hatte sich also, abgesehen von Versuch I, kein auch nur annähernd gleichbleibender Erfolg ergeben, welcher zu weiteren Arbeiten in dieser Richtung ermutigte.

Da für meine nunmehr beginnende längere Versuchsreihe, wozu ich die Einleitung bereits oben gegeben habe, nach und nach sämtliche Kühe des Rassenstalles benutzt werden sollten, so war es zunächst nötig, den Bestand einer Vorprüfung nach Trommsdorff zu unterziehen.

Die Milch zweier Kühe — es waren im ganzen 20 Tiere zu prüfen — erwies sich durch ihren über die Normale hinausgehenden Leukocytengehalt mastitisverdächtig. Durch Nachweis von Streptokokken im Ausstrichpräparat, sowie durch Reinkultur der letzteren wurde dieser Verdacht in vollem Umfange bestätigt. Kuh No. 127 ergab einen Leukocytengehalt von 1 Prom., in 1 ccm der steril ermolkenen, gut gemischten Gesamtmilch wurden 5700 Keime gezählt.

Kuh No. 120, mit 0,75 Prom. Leukocytengehalt, wies im Kubikcentimeter sogar 19166 Keime auf. Die aufgelaufenen Kolonieen gehörten zu 80—90 Proz. den Streptokokken an. Die krank befundenen Tiere wurden sofort abgesondert und ausgemerzt.

Durch diese zu Beginn der Versuche gemachte Wahrnehmung dürfte wiederum mit aller Deutlichkeit bestätigt werden, daß unter Umständen schon die Milch eines einzigen infizierten Tieres genügt, den Keimgehalt der Mischmilch eines sonst sorgfältig gehaltenen Stalles wesentlich zu erhöhen. Es muß noch erwähnt werden, daß der gesamte Viehbestand ständiger tierärztlicher Kontrolle unterstellt ist, es ergab sich also die Bestätigung der Trommsdorffschen Erfahrung, daß äußerliche Untersuchung allein nicht immer ausreicht, die mastitiskranken Tiere zu ermitteln, besonders wenn die Krankheit noch nicht weit vorgeschritten ist. Die Trommsdorffsche Probe hat sich bei meinen zahlreichen Versuchen im allgemeinen als sehr zuverlässig bewährt, jedoch muß bemerkt werden, daß es, wenn auch nur in seltenen Fällen, vorkommen kann, daß einzelne Kühe vorübergehend einen verdächtig hohen Leukocytengehalt aufweisen, aber ohne daß dieser Verdacht begründet ist. So z. B. ergab die Milch der Kuh No. 155 am 25. März 1907 einen Leukocytengehalt von 1 Prom., weder im Ausstrichpräparat, noch durch das Plattenverfahren ließen sich Streptokokken nachweisen; die gefundene Keimzahl betrug nur 154 pro ccm. (Mittel aus 6 Parallelen, je $^1/_{10}$ ccm der gut gemischten aseptisch ermolkenen Gesamtmilch auf Agarplatten gegossen und 5 Tage im Brutschrank bei 38° gehalten.) Die Kuh hatte zwar am Tage zuvor gerindert, ohne daß der Milchertrag infolgedessen erheblich zurückgegangen war, es wurden ermolken am 23. März 8,7 l, 24. März 8,1 l, 25. März 8,3 l, 26. März 8,6 l, 27. März 8 l Milch. Nach 8 Tagen bewegte sich der Leukocytengehalt dieses Tieres wieder unter 0,5 Prom. und gab auch weiterhin während der Dauer der Versuche zu Bedenken keinen Anlaß. Durch vergleichende Versuche mit anderen Kühen konnte jedoch nicht bestätigt werden, daß sich eine Erhöhung des Leukocytengehaltes regel-

mäßig als Begleiterscheinung des Rinderns einstellt. Es geht dies hervor aus der Untersuchung bei einer anderen Kuh, No. 141, welche am 8. Mai rinderte. Der Leukocytengehalt betrug hier nur 0,1 Prom., der Keimgehalt unter gleichen Bedingungen wie oben 560 pro ccm. Demnach müssen also noch andere Ursachen für die vorübergebende nicht durch Erkrankung bedingte Erhöhung des Leukocytengehalts maßgebend sein. Da ich auch in einem anderen Stalle eine ähnliche Beobachtung machen konnte, so möge diese Tatsache den Hinweis rechtfertigen, daß die Trommsdorffsche Probe unter Umständen durch mikroskopische Prüfung des Ausstrichpräparates vervollständigt werden muß. Man wird nicht auf den positiven Befund der Schleuderprobe allein die Ausmerzung wertvoller Tiere verfügen.

Dagegen fand ich, daß die sogenannte Milchgärprobe, wie sie A. Peter (10) und Schatzmann in die milchwirtschaftliche Praxis eingeführt haben, ein sehr zuverlässiges Hilfsmittel für den Nachweis mastitiskranker Kühe abgibt. Es zeigt sich nämlich in der steril ermolkenen Milch, welche in Mengen von mindestens 50 ccm auf Reagenzgläser gefüllt während 12—24 Stunden im Brutschranke bei 38—40° gestanden hat, bei leichteren Fällen regelmäßig ein rahmgelber Bodensatz. Bei vorgeschrittener Erkrankung ist dieses Sediment mit Blut- und Eiterpartikeln durchmischt. Da beim Stehen im Brutschranke gleichzeitig eine Anreicherung an Streptokokken stattfindet, so lassen sich dieselben, wenn sie einmal vorhanden sind, massenhaft im Ausstrichpräparat des Sediments nachweisen. Durch Vergleich mit normalen Milchproben läßt sich auch wahrnehmen, daß die über dem Bodensatz unterhalb der Rahmschicht stehende Milch meist eine sehr helle, bläulich durchscheinende Farbe besitzt, gleichsam als ob sie gewässert worden wäre. Wenn es sich also darum handelt, geeignete Kühe für die Gewinnung keimarmer Milch auszuwählen, wird man in der Praxis neben der Trommsdorff-Probe auch die bei einiger Sorgfalt (genaues Innehalten der Temperatur von 38—40°!) leicht auszuführende Milchgärprobe anwenden, um die Milch der einzelnen Kühe zu untersuchen. Die Gärprobe ist in regelmäßigen Pausen, etwa allwöchentlich zu wiederholen. Die Vervollständigung der Trommsdorffschen Methode durch die Gärprobe erscheint um so notwendiger, als erstere nach meinen Erfahrungen nicht immer imstande ist, bei der Mischmilch mehrerer Kühe leichtere Erkrankungsfälle eines Tieres rechtzeitig aufzudecken. So z. B. vergl. Versuch No. 29, s. Tabelle A. Die sorgfältig gemischte Milch der Kühe No. 93, 130, 162, 164 ergab in der Durchschnittsprobe den nach Trommsdorff noch für einwandfrei geltenden Gehalt von 0,6 Prom. mit 803 Keimen pro ccm (Mittel aus 3 Parallelen). Kuh No. 164, für sich allein geprüft, ergab 1,4 Prom., im Ausstrichpräparat ließen sich Streptokokken nachweisen. Der Keimgehalt betrug bei der einen Versuchsreihe (No. 29) aber nur 290 Keime (Durchschnitt aus drei Bestimmungen), Streptokokken wurden nicht gefunden. Erst eine zweite Untersuchung, veranlaßt durch den oben geschilderten Befund in der Gärprobe, Bildung eines geringen gelblich-weißen Bodensatzes, ergab 2557 Keime, darunter zahlreiche Streptokokken auf der Gelatineplatte. Also hatte sich in diesem Falle die Gärprobe dem Trommsdorffschen Verfahren überlegen gezeigt.

Von dem also geprüften Milchviehbestand wurden nun während eines ganzen Jahres in unregelmäßigen Pausen, etwa allwöchentlich zuerst 3, dann 4 Kühe zum aseptischen Melken bestimmt. Fast zu jeder Versuchs-

reihe wurden andere Tiere gewählt. Da in dem Rassenstalle des landwirtschaftlichen Instituts der Körperpflege der Tiere ohnehin die größte Sorgfalt geschenkt wird, so sah ich aus oben angedeuteten Gründen davon ab, die Melkkühe noch einer Ganzwaschung unterziehen zu lassen. Es wurde nur angeordnet, daß die Euter kurz vor dem Melken immer sehr gut gewaschen wurden, eine Person besorgte die Vorreinigung, darauf folgte das Nachwaschen, die dritte endlich bewirkte das Abtrocknen mit einem weichen sauberen Tuche. Die Leute waren angewiesen, die Reinigung so gut auszuführen, daß das Trockentuch nur noch wenig Schmutz annahm. Mein besonderes Augenmerk wandte ich aber der Säuberung der zur Aufnahme der Milch benutzten Gefäße zu. Als Melkeimer dienten von Backhaus (11) konstruierte „Nutricia“-Eimer; das Wesentliche ihrer abweichenden Konstruktion besteht darin, daß dieselben eine nur handbreite, ovale Oeffnung zum Hineinmelken besitzen, welche am Rande einen Wulst aufweist, so daß neben die Oeffnung gespritzte Milchstrahlen unter keinen Umständen in den Eimer gelangen und etwa während des Melkens auf dem Deckel abgelagerte Keime oder Staubteile hineinspülen können. Die ovale Oeffnung wurde von mir mit einem leicht abnehmbaren Deckel ausgestattet, welcher erst unmittelbar vor Gebrauch entfernt und während der Melkzeit nicht wieder benutzt wurde. Die ersten 3—4 Züge jeder Zitze wurden von der nachfolgenden Milch getrennt in einem gewöhnlichen Eimer aufgefangen. Der dadurch entstehende Milchverlust ist nur unbedeutend, da auch die Vormilch bekanntlich ziemlich fettarm ist, er betrug, auf das Gesamtgemelk von ca. 20 Tieren berechnet, ungefähr 2 l mit einem durchschnittlichen Fettgehalt von 0,8 Proz. Der Oberschweizer und die Melkerinnen waren angewiesen, ihre gut mit warmem Wasser, Seife und Bürste gereinigten Hände tunlichst vor jeder Infektion zu schützen. Deshalb wurde auch das Festbinden des Schwanzes unterlassen, die Eimer wurden von einer Hilfsperson zugereicht und abgenommen. Es wurde auch besonders acht gegeben, daß die Melkeimer nicht senkrecht unter die Kühe, sondern abseits ein wenig schräge gehalten wurden, um das Hineinfallen von Keimen, Haaren, Hautschüppchen u. s. w., welche sich während des Melkens vom Körper absondern, nach Möglichkeit einzuschränken. Die Melkeimer wurden nicht mehr als höchstens dreimal für jeden Versuch benutzt und sonst der Stallluft nicht unnötigerweise preisgegeben. Einmal habe ich bei Versuch No. 28 nur 1 Eimer für 4 Kühe benutzt, ohne daß dies eine auffallende Keimvermehrung im Gefolge gehabt hätte. Aus den Eimern gelangte die Milch über ein ebenfalls mit Deckel verschließbares Funkesches Faltenfilter (12) durch grobe Leinwand, um mechanische Verunreinigungen, insbesondere Haare, zurückzuhalten, in ein ca. 20 l fassendes Sammelgefäß, aus welchem sie durch einen besonders konstruierten Milchzapfhahn in 1 l fassende Glasflaschen abgezogen wurde. Das Sammeln hatte den Zweck, eine gleichmäßige Durchmischung der Milch herbeizuführen und das Milchfett gehörig zu verteilen. Sämtliche Gefäße waren nach voraufgegangener gründlicher Reinigung mit Seife und Bürste im Trockenschrank bei 160—170° sterilisiert, ebenso das Seihetuch, dasselbe wurde in feuchtem Zustande eingestellt. Im Gegensatz zu anderen Versuchsanstellern, z. B. Backhaus (13) gab ich der Trockensterilisation den Vorzug vor dem Ausdämpfen, denn sie vernichtet die Sporen viel sicherer, sie vollzieht sich schneller und ist auch billiger in der Anlage. Autoklavensterilisation verlangt sehr gut ge-

schultes Personal, in größeren Apparaten läßt sich sichere Sterilisation nur schwer erreichen. Insbesondere aber springen die starkwandigen Milchflaschen beim Erhitzen im gespannten Dampfe regelmäßig entzwei, während mir dies bei der Trockensterilisation nicht passierte. Endlich wird auch durch diesen Prozeß der Milch nicht so leicht ein unangenehmer Geschmack verliehen, wie es beim Ausdämpfen von Metallgegenständen der Fall sein kann. Wenn man die von mir erzielten Erfolge gelten läßt, erscheint es zu verwundern, daß man nicht schon längst der Trockensterilisation im Molkereibetriebe den Vorzug gibt. Genügend große Heißluftsterilisatoren werden jetzt von allen leistungsfähigen Lieferanten bakteriologischer Apparate gebaut, z. B. Wallach Nachf. in Kassel.

Von der im Sammelgefäß gut durchgeschüttelten Milch wurde 1 l zur Untersuchung entnommen. Für die bakteriologischen Bestimmungen wurden hiervon zwei 100 ccm fassende, sterile, mit Wattestopfen verschließbare Glaskolben, sogenannte Verbrennungskölbchen abgefüllt, so wie sie auf dem Institute zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl gebraucht werden. Diese Kölbchen habe ich deshalb gewählt, weil sie vermöge ihrer geringen Bodenfläche ein genügend tiefes Einsenken in die später zu beschreibenden Wasserbäder gestatten. Um Verspritzen der Milch an den oberen Glaswandungen zu vermeiden, erfolgte das Einfüllen durch sterile Glastrichter. Der eine mit A bezeichnete Kolben diente als Untersuchungsmaterial für die in Tafel A mitgeteilten Ergebnisse. Die erste Untersuchung erfolgte sofort nach dem Einfüllen in die Kolben. Zum Abmessen der für Petri-Schalen bestimmten Milchmengen bediente ich mich mit gutem Erfolge einer Küsterschen Saugpipette (14), welche sicheres und bequemes Abmessen kleiner Flüssigkeitsmengen gestattet. Die Pipette ragte durch eine sterile Glasplatte hindurch und war in der Klemme eines Stativhalters befestigt. So sollte nach Möglichkeit Infektion der Petri-Schalen während des Abmessens vermieden werden. Für jeden Einzelversuch wurde je $^1/_{10}$ ccm Milch auf 3 Petri-Schalen gebracht und aus den sich ergebenden Keimzahlen das Mittel gezogen. Voraufgehende Verdünnung der Milch in Wasser oder Bouillon habe ich nach dem Vorgange von Willem und Minne unterlassen. Da der Nährboden durch Hinzufügen unverdünnter Milch für das Wachstum der in der Milch vorhandenen Bakterien recht geeignet wird, konnte ich ferner davon absehen, besonderen Nährboden, wie z. B. Molkengelatine (welche sich bei den früher mitgeteilten Versuchen in unserem Laboratorium nicht besonders bewährte, vergl. oben) für meine Versuche zu verwenden. Jedoch habe ich die Reaktion der Gelatine unmittelbar vor dem Plattengießen immer peinlich geprüft, ob dieselbe noch leicht alkalisch war. Bekannt ist, aber in der Praxis leicht übersehen wird die Tatsache, daß einige Gelatinesorten, selbst nach ursprünglich richtiger Reaktion des abgefüllten Nährbodens, ein leichtes Nachsäuern bewirken, welches erst nach einiger Zeit bemerkbar wird. Wie Willem, Miele und Minne, habe ich nicht Agar zur Keimzahlbestimmung benutzt im Gegensatz zu verschiedenen anderen Forschern, da ich unter gleichen Bedingungen arbeiten wollte wie erstere. Es soll damit aber keineswegs ausgesprochen sein, daß Agar und Gelatine in dieser Hinsicht gleichwertig sind. Daß sich erhebliche Unterschiede ergeben können, zeigte sich auch bei meinen Versuchen:

Versuch No. 17 vom 20. März 1907.
Mischmilch von 4 Kühen, aseptisch gemolken:
Je 3 Platten Durchschnitt pro Kubikcentimeter.
Gelatine (Zählzeit 10 Tage bei 20°) 170 Keime; Agar (Zählzeit 5 Tage bei 38°) 250 Keime.
Auf Agar waren also 47 Proz. mehr Keime zur Entwickelung gelangt.
Versuch No. 20 vom 25. April.
Gelatine 300 Keime. Agar 620 Keime.
Auf Agar also 107 Proz. mehr.

Die Zählung der Gelatineplatten, welche bei 20° im Thermostaten gehalten wurden, erfolgte immer erst nach Ablauf von 9—10 Tagen. Wie man aus folgenden Zählreihen ersieht, macht sich in der Regel erst nach Verlauf von 4—5 Tagen ein erhebliches Anschwellen der Keimzahl bemerkbar.

I. Aseptisch gewonnene Mischmilch mehrerer Kühe des landwirtschaftlichen Instituts vom 23. August 1907 (je $^1/_{10}$ ccm Milch auf Gelatine).

Keimzahl am	Platte I	II	III		Keimzahl am	Platte I	II	III	
26. August	4	2	5		30. August	95	98	91	7. Tag
27. „	17	10	14		31. „	103	102	94	8. „
28. „	40	44	47	5. Tag	1. September	103	103	96	9. „
29. „	63	67	61	6. „	2. „	104	103	96	10. „

II. Mischmilch vom Rittergut M. bei Leipzig (sogenannte „Musterkindermilch") vom 18. September 1907 (je $^1/_{1000}$ ccm Milch auf Gelatine).

20. September	6	2	2		25. September	191	209	182	7. Tag
21. „	8	27	15		26. „	196	211	185	8. „
23. „	65	90	55	5. Tag	27. „	196	211	191	9. „
24. „	178	206	172	6. „	28. „	208	215	193	10. „

III. Mischmilch vom landwirtschaftlichen Institut vom 18. September 1907 (je $^1/_{1000}$ ccm Milch auf Gelatine).

20. September	21	23	26		25. September	129	123	118	7. Tag
21. „	69	49	62		26. „	131	120	122	8. „
23. „	96	91	83	5. Tag	27. „	131	125	124	9. „
24. „	121	116	114	6. „	28. „	131	125	124	10. „

IV. Aseptisch gewonnene Mischmilch mehrerer Kühe des landwirtschaftlichen Instituts vom 2. Oktober 1907 (je $^1/_{10}$ ccm Milch auf Gelatine).

3. Oktober	7	15	12		8. Oktober	40	37	35	6. Tag
4. „	16	19	17		9. „	43	40	36	7. „
5. „	24	26	25		10. „	45	41	39	8. „
6. „	27	30	29		11. „	45	42	39	9. „
7. „	34	34	32	5. Tag	12. „	45	42	39	10. „

Demnach führt es also nicht zu einwandfreien Resultaten, wenn man die Zählung schon mit dem 4. oder 5. Tage abschließt, oder wenn die Zähldauer bei den Einzelversuchen ungleich lange bemessen wird, wie es z. B. Koning getan hat (15). Solche längere Beobachtungsdauer läßt sich freilich nur innehalten, wenn man das von Hiltner und Störmer (16) eingeführte Verfahren, die verflüssigenden Kolonieen und Schimmelpilze beizeiten mit Silbernitrat abzustiften, in Anwendung bringt.

Bei meinen Versuchen habe ich, wie aus Tabelle A ersichtlich, die aus ein und demselben Kolben stammende Milch von jeder Versuchsreihe nicht nur in frischem Zustande, unmittelbar nach dem Melken, untersucht, ich habe auch Bestimmungen gemacht, wie hoch sich die Keimzahl nach einer Stunde Kühlens belief. Zu diesem Zwecke wurden die gefüllten Kolben möglichst tief in einen mit kleinen Eisstücken und

Wasser gefüllten Topf gesenkt. Das Eiswasser wurde eine halbe Stunde vor Beginn der Versuche angesetzt und dafür Sorge getragen, daß bis zu Ende stets eine genügende Quantität ungeschmolzenen Eises vorhanden war. Die Milch nahm hierbei schon nach 5 Minuten eine gleichmäßige Temperatur von 4—5° an. Ferner habe ich von der auf diese Weise gekühlten Milch weitere Proben entnommen und zwar nach 16- und 40-stündigem Aufenthalt im Eisschrank. Wenn dafür gesorgt ist, daß der Schrank in einem Raume steht, dessen Temperatur nicht allzu erheblichen Schwankungen unterliegt und wenn der Eisbehälter immer vollständig gefüllt erhalten wird, so läßt sich auch während des Sommers eine ziemlich konstante Temperatur erreichen, welche nur wenig zwischen 6 und 8° schwankt.

Diese verschiedenen Versuchsreihen neben der Frischmilchprobe sollten zunächst dazu dienen, die erstgefundene Keimzahl durch möglichst viele Bestimmungen einigermaßen zu kontrollieren, daneben wollte ich aber auch feststellen, ob der schon von anderen Forschern behauptete Rückgang des Keimgehalts der Milch in der ersten Zeit nach dem Melken sich bestätigte und inwieweit sich diese Erscheinung durch zweckmäßige Behandlung der aseptisch gewonnenen Milch auch praktisch verwerten läßt.

Deshalb habe ich auch auf eine kompliziertere Behandlung der Milchproben verzichtet, welche erforderlich gewesen wäre, um die angegebenen Temperaturgrade, so wie es wissenschaftlichen Anforderungen entspricht, noch genauer innezuhalten. Wie man sieht, sind die von mir geschaffenen Bedingungen im praktischen Großbetriebe unschwer nachzuahmen. Es erübrigt noch, zu bemerken, daß ich beim Lüften des Wattepfropfens, welches durch die wiederholten Probenahmen erforderlich wurde, die größte Vorsicht obwalten ließ, aber immerhin war gelegentliche Verunreinigung der Kulturen durch Schimmelpilze, insbesondere Penicillium-Arten nicht immer zu vermeiden. Deshalb habe ich die letzteren nicht mitgezählt, ich will damit aber keineswegs die Ansicht vertreten, daß die Gegenwart von Penicillium für die Haltbarkeit der aseptisch gewonnenen Milch belanglos ist. Doch würde die Qualität erst dann gefährdet werden, wenn die Aufbewahrung bei höheren Wärmegraden erfolgt.

Einige Versuche, welche ich angestellt hatte, um die Keimzahl durch Erhitzen bei relativ niedrigeren Wärmegraden, nämlich 55—58°, herabzudrücken, waren bei der keimarm gewonnenen Milch von so überraschend günstigen Erfolgen begleitet, daß ich mich veranlaßt sah, auch diese Schwachpasteurisation mit in den Bereich meiner Versuche zu ziehen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle B zu finden, es sind dies durchweg die Parallelen von A. Die für B bestimmte Probe wurde, wie schon gesagt, in genau gleicher Weise entnommen. Die Pasteurisierung erfolgte in der Art, daß der mit 100 ccm gefüllte Kolben 10 Minuten lang in ein auf 55—58° temperiertes Wasserbad gestellt wurde. Nach ungefähr 5 Minuten war eine gleichmäßige Temperatur erreicht. Die Kontrolle erfolgte durch ein in einer miterwärmten, aber mit Wasser gefüllten genau gleichen Glasflasche eingestelltes Thermometer. Nach Ablauf von 10 Minuten wurde die Milch zunächst durch Einsetzen in kaltes Wasser vorgekühlt, dann 1 Stunde in Eiswasser gestellt und des weiteren ebenso wie Probe A behandelt. Auch dieses Verfahren würde sich in größeren Betrieben leicht durchführen lassen, wenn man sich dazu etwa eines besonderen Pasteurisationsapparates bedient, wie solche seit einer Reihe

von Jahren in Brauereien zur Nachpasteurisation des Flaschenbieres benutzt werden, und wie sie z. B. R. Voigt in Dresden baut. Durch diesen gelinden Erwärmungsprozeß wird die Milch nicht in wahrnehmbarer Weise verändert, sie zeigt die Guayakreaktion nach Arnold (17), sowie die Storchsche Reaktion (18) in unveränderter Weise, wie im frischen Zustande. Auch eine sorgfältige chemische Analyse, welche Herr Dr. Kretzschmar, chemischer Assistent des Instituts, für mich auszuführen die Güte hatte, ließ keinen wesentlichen Unterschied der rohen Probe gegenüber erhitzt erkennen. Es ergab sich:

	Rohprotein N %	Kasein N %	Albumin N %
Probe A (roh)	0,468	0,381	0,0805
	0,476	0,373	0,0804
		0,369	0,0875
Durchschnitt	0,472	0,374	0,083
Probe B	0,480	0,374	0,0887
	0,472	0,374	0,0840
		0,378	0,0872
Durchschnitt	0,476	0,375	0,0866

Es muß noch bemerkt werden, daß sich der Geschmack der aseptisch gewonnenen Milch, welche, wie ich schon in meiner früheren Arbeit hervorhob, viel leichter auf gewisse im Futter vorhandene Stoffe reagiert, als gewöhnliche, mit „Aroma“ bildenden Bakterien angereicherte Marktmilch, durch das Erwärmen ganz bedeutend verbessern läßt. Der Beigeschmack tritt in roher keimarmer Milch besonders störend auf, wenn Wickengemenge oder Hülsenfrüchte als Grünfutter verabreicht werden, und macht sich mit zunehmender Reife derselben in steigendem Grade bemerkbar. Daß die Verbesserung des Geschmacks nicht etwa durch Absterben gewisser Bakterien infolge des Erhitzens verursacht wird, geht aus dem Umstande hervor, daß schon die ganz frisch ermolkene rohe Milch den Beigeschmack wahrnehmen läßt. Ist derselbe einmal vorhanden, so wird er bei der Aufbewahrung im rohen Zustande trotz des Rückgangs der Keimziffer nach 16 und 40 Stunden (vergl. später) immer unangenehmer. Dann dürften doch wohl auch die gefundenen Keimmengen unter Berücksichtigung der Arten an und für sich zu gering sein, um eine erhebliche Geschmacksverschlechterung zu veranlassen, welche deutlich an den eigentümlichen Geruch des Grünfutters erinnert.

Was zunächst die Ergebnisse der in Tabelle A mitgeteilten Versuchsreihen anbelangt, so habe ich zwar, durch Umrechnung der Einzelergebnisse in Prozente, versucht, zu zeigen, wie sich die Frischmilch von Fall zu Fall verändert hat. Jedoch will ich mit rein arithmetischen Ableitungen nicht zu weit gehen, denn bekanntlich können die Schwankungen der einzelnen Parallelen schon bei der Plattenzählung mitunter ziemlich bedeutend sein. Die gefundenen Arten gehörten in der Mehrzahl den bereits von Willem, Miele und Minne beschriebenen Arten an. Vergl. auch Barthel (19). Es sind dies hauptsächlich Kokkenarten, Verwandte der Gruppe des Staphylococcus pyogenes aureus, albus u. s. w. Dieselben haben aber besondere Neigung, sich in Klümpchen zusammenzuballen, und infolge der ungleichmäßigen Auflösung dieser Konglomerate beim Umschütteln der Milchproben vor der Probenahme wird eine durchaus gleichmäßige Verteilung in der Milch nicht immer zu erwarten sein. Schwankungen in den Ergebnissen der Einzelversuche mögen so ihre Erklärung finden, ich habe mich

deshalb darauf beschränkt, die Durchschnittsergebnisse einander gegenüberzustellen.

Die Frischmilch ergab im Mittel aus 40 ausgeführten über ein ganzes Jahr verteilten Melkversuchen einen Gehalt von 419 Bakterien pro Kubikcentimeter. Die höchste Keimzahl bei den Einzelversuchen, d. h. von einer Platte unter Ausschaltung der Parallelen, war 1500 und zwar in der ersten Periode, nämlich am 27. November 1906. Diese hohe Zahl hat ihre Ursache nur in der anfänglich bestehenden Ungewandtheit des Personals, welches sich erst mit dem neuen Verfahren vertraut machen mußte. Uebrigens läßt sich auch später, bei Versuch 15, ein starkes Abweichen von den sonst erhaltenen Ergebnissen beobachten; ich erhielt zwei neue Melkerinnen zugewiesen, welche durch ihre Ungeschicklichkeit die Milch mit besonders zahlreichen Keimen, insbesondere einer Dematium-Art, infizierten. Die niedrigste Ziffer wurde am 14. Februar mit 40 erreicht. Von nicht unwesentlichem Einfluß in dieser Beziehung ist die Art der Fütterung. Solche Stoffe, welche eine weichere und reichlichere Kotabsonderung bedingen, wie z. B. frische Rübenblätter und Grünfutter, erschweren naturgemäß die Gewinnung keimarmer Milch. Es treten dann besonders Fäulnisbakterien und sporentragende Keime auf. Bei reiner Trockenfütterung (getrocknete Rübenschnitzel, gesunde Runkelrüben in nicht zu reichlichen Mengen neben Heu und Kraftfutter) war der Keimgehalt am niedrigsten. Dies geht klar aus folgender Gegenüberstellung hervor: in der Trockenfütterungsperiode, welche den Zeitraum vom 20. November bis zum 30. Mai umfaßt (22 Versuche), betrug der mittlere Keimgehalt pro Kubikcentimeter nur 326, hingegen stieg derselbe während der Zeit, wo Grünfutter verabreicht wurde, vom 3. Juni bis 7. November (18 Versuche) auf 532, er hatte also eine Erhöhung um 63,20 Proz. erfahren.

Der Trockenfütterung würde also für die Zwecke der aseptischen Milchgewinnung im allgemeinen der Vorzug zu geben sein, doch dürfte es sich empfehlen, nicht allzuweit von der natürlichen Ernährung abzuweichen und während des Sommers wenigstens etwas einwandfreies Grünfutter zu verabreichen, da dies dem Gesundheitszustande der Tiere weit zuträglicher ist als ausschließliche Trockenfütterung.

Aus den 35 vollständig durchgeführten, in Tabelle A mitgeteilten Versuchen ergibt sich ferner, daß durch die Tiefkühlung allein auf den Durchschnitt berechnet, eine Verminderung der ursprünglichen Keimziffer um 11,4 Proz. erreicht wurde.

Nach 16-stündiger Aufbewahrung der vorgekühlten Milch im Eisschranke bei 6—8° sank der Keimgehalt auf 16,8 Proz. des anfänglichen Gehaltes, er erfuhr also eine weitere Verminderung um 5,4 Proz.

Stärker noch war die Abnahme, wenn die Aufbewahrung 40 Stunden dauerte, der Keimgehalt betrug alsdann nur 33,09 Proz. des ursprünglichen, hatte also eine Abnahme um 21,69 Proz. gegenüber der nur gekühlten Milch erfahren.

Es ergibt sich also eine Bestätigung der bereits von Anderen gemachten Wahrnehmung, daß der Keimgehalt einer sehr sauber gewonnenen Milch bei kühler Aufbewahrung in den ersten beiden Tagen keine Zunahme erfährt, sondern eine starke Verminderung erleidet. Man hat diese Erscheinung mit Bakterizidie bezeichnet, Koning spricht von einer „bakteriziden Phase“. Zur Erklärung dieser Tatsache wird ange-

nommen, daß der Milch eine ähnliche keimtötende Eigenschaft zukomme wie dem Blute.

Nach meinen Beobachtungen möchte ich jedoch der Auffassung zuneigen, daß es sich unter den eben dargelegten Verhältnissen nicht um eine besondere der Milch eigentümliche keimvernichtende Kraft handelt, sondern daß die Keimverminderung in erster Linie bewirkt wird durch Absterben der ursprünglich an die Körpertemperatur angepaßten weniger widerstandsfähigen Bakterien, welchen das dauernde Verweilen bei niedriger Wärme nicht zusagt. In dieser Auffassung werde ich durch die Wahrnehmung (vgl. später) bestärkt, daß die bei 55—58° pasteurisierte Milch bei kühler Aufbewahrung keine weitere Keimverminderung aufwies. Die Bakterienzahl erhielt sich vielmehr während der 40-stündigen Beobachtungsdauer ziemlich konstant [1]).

1) Nachträglich habe ich auch noch folgende Versuche ausgeführt: Von einer bei 37—38° auf Agar gezüchteten Reinkultur des Micr. pyogenes aureus, sowie Bact. lactis aërogenes, beide direkt aus Milch isoliert, wurde je eine Aufschwemmung in Bouillon hergestellt und einige Stunden im Brutschrank gehalten. Diese Aufschwemmungen wurden des weiteren genau in derselben Weise behandelt, wie oben geschildert; 1 Stunde in Eiswasser auf 4—5° gekühlt, dann 40 Stunden im Eisschrank bei 6—8° aufbewahrt.

Die Zählresultate waren folgende:

	Microc. pyogenes aureus		Bact. lactis aërogenes	
Anfangsgehalt pro ccm	138 000		109 000	
		Abnahme gegen a)		Zunahme geg. a)
nach 1 Std. Kühlen	121 000	= 12,51 Proz.	127 000	16,51 Proz.
„ 16 „ im Eisschrank	110 000	= 20,46 „	146 000	33,94 „
„ 40 „ „ „	48 000	= 65,29 „	164 000	50,45 „

(Die Zahlen repräsentieren das Mittel aus je 6 Versuchen für jede Reihe, und zwar wurde Micr. pyogenes aureus auf Agarplatten nach dreitägigem Aufenthalt im Brutschranke gezählt, von Bact. lactis aërogenes dagegen wurden Gelatineplatten angelegt und 10 Tage lang bei 20° beobachtet.)

Bei diesen Versuchen wurde über eine zweimalige Verdünnung der Aufschwemmungen nicht hinausgegangen. Die Menge der auf einer Platte sich entwickelnden Kolonieen mußte ungefähr 100 bis 150 betragen (zur Begründung dieser Technik vgl. auch die Mitteilung von Hiltner und Störmer l. c. p. 451).

Nach diesen Resultaten dürfte also anzunehmen sein, daß sich bestimmte Bakterien unter den geschilderten Einflüssen recht verschieden verhalten können. Demnach würde, solange nicht umfassende weitere Versuche diese Auffassung widerlegen, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen sein, daß sich die Sache in der gekühlten und kalt aufbewahrten Milch ganz ähnlich verhält; ein Teil der vorhandenen Keime wird unterdrückt, ein anderer Teil vermag den ungünstigen Bedingungen zu trotzen und es kann sogar zu weiterer Teilung kommen. Vielleicht läßt sich so auch eine Erklärung dafür finden, daß im allgemeinen in keimarmer Milch, welche vorzugsweise die Repräsentanten der Micrococcus pyogenes-Gruppe enthält, bei kühler Aufbewahrung Keimabnahme stattfindet, wohingegen die in gewöhnlicher Weise gewonnene Milch weit mehr psychrotolerante und psychrophile Bakterien aufweist, sodaß bei dieser Verminderung des Keimbestandes nicht wahrnehmbar wird. Wenn die Keimabnahme aber im wesentlichen nur von der Art der von Anbeginn vorhandenen Bakterien abhängig ist, so wird es nicht gerechtfertigt sein, erstere durch „Bakterizide“ zu erklären. Nach den mitgeteilten Erfahrungen glaube ich, mich also recht skeptisch gegenüber den Angaben jener Forscher verhalten zu müssen, welche behaupten, daß der von ihnen beobachtete Rückgang der Keimzahl in frischgemolkener, bei entsprechend niedriger Temperatur aufbewahrter Milch (vgl. auch die diesbez. Ausführungen in Lafars Handbuch 1905/6. Bd. II. p. 7, 256) auf einer derselben innewohnenden bakteriziden Eigenschaft beruhe.

Endlich bleibt noch genauerer Untersuchung vorbehalten, ob nicht unter Umständen allein zunächst durch die bei bestimmten Temperaturen (z. B. 21° bei Hunziker s. u.) erfolgende Bildung gewisser Stoffe (vielleicht Milchsäure?), rein arithmetisch genommen, ein Rückgang der ursprünglich gegebenen Keimzahl veranlaßt wird. Daß diese letztere Möglichkeit nicht ganz von der Hand zu weisen ist, dürfte auch aus den Befunden Stockings (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 275) hervorgehen.

Wenn, analog dem Blute, bakterizide Stoffe in der Milch vorhanden sind, so ist doch wohl anzunehmen, daß dieselben erst bei Körpertemperatur, also bei 37—38 °, wirksamer werden und ihre volle Wirkung entfalten. So fand auch Koning (20) bei seinen Versuchen mit Kolostrummilch die Keimabnahme bei 37 ° wesentlich höher als bei niedrigeren Wärmegraden. Kolle spricht der rohen Milch bakterientötende Kräfte nur gegenüber den Cholerabacillen zu. Gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen, dem Erreger der Fleischvergiftung sowie den Coli-Bacillen erwies sie sich unwirksam, höchstens ließ sich bezüglich der Dysenteriebacillen eine geringe entwickelungshemmende Fähigkeit wahrnehmen. Bei den Versuchen mit Cholerabakterien, welche übrigens auch schon andere Forscher zu ähnlichen Resultaten führten (21), ließ sich (22) nachweisen, daß die Bakterizidie der Milch bei 37 ° ganz erheblich wirksamer ist, als bei 15 und 5 °[1]). Da nun die Bakterizidie durch Erhitzen auf 60 ° nicht geschädigt[2]) wurde und Kolle in Gemeinschaft mit anderen Autoren behauptet, daß erst bei höheren Temperaturen Minderung und Vernichtung derselben stattfindet, so hätte sich Keimabnahme auch bei meinen pasteurisierten Milchproben zeigen müssen. Leider hat Kolle unterlassen, durch vergleichende Prüfungen mit anderen Lösungen, etwa mit Bouillonkulturen, festzustellen, ob die von ihm in Milch beobachtete Keimabnahme der Cholerakulturen bei 15 und 5 ° etwa nur auf Rechnung der veränderten physikalischen Verhältnisse zu setzen ist.

Es sei hier auch auf die Versuche von Smith und Swingle (23) verwiesen, welche feststellen konnten, daß das Gefrierenlassen von Bakterienkulturen eine erhebliche Keimverminderung bewirkte, beim Typhus wurden z. B. ca. 99 Proz. vernichtet.

Es erscheint also angezeigt, physikalische und physiologische Ursachen auseinanderzuhalten, wenn es sich darum handelt, den Keimrückgang in Milch zu erklären.

Sommerfeld (24) spricht auf Grund weiterer Versuche den löslichen Eiweißkörpern der Milch bakterizide Wirkungen in Bezug auf Coli- und Typhusbacillen ebenfalls ab. Rullmann und Trommsdorff (25) nehmen an, daß eine Abhängigkeit der Bakterizidie (d. h. sie meinen damit Rückgang der anfänglich in frischer Milch ermittelten Keimzahl) von der Menge der in ihr enthaltenen Leukocyten besteht. Diese letztere These gab mir Veranlassung, zu ermitteln, wie sich die

1) Hunziker (Bull. Cornell Univ. agr. exper. stat. 197. p. 65, zit. nach Ref. in Kochs Jahresber. 1902. p. 376, vgl. Anmerk. daselbst) kam hingegen zu dem Resultat, daß Keimabnahme in frischer Milch bei 37 ° fast gar nicht beobachtet wurde; bei 21 ° trat sie dagegen am deutlichsten hervor. Bei 5 und 13 ° war die Abnahme nicht so stark, hielt aber länger an.

2) von Freudenreich (Annales de micŕogr. 1891. No. 9. p. 416, welche mir nicht zugänglich waren, deshalb zit. nach Kochs Jahresber. 1891. p. 102) vertritt allerdings die Ansicht, daß die „Bakterizide" der Milch schon durch Erhitzen auf 55 ° geschädigt wird. Die Erhitzungsdauer währte bei seinen Versuchen aber 1 Stunde bez. 20 Minuten bei 68–69 °.

Hippius (Jahrbuch für Kinderheilk. 1905. p. 373) spricht der rohen Milch gegenüber Prodigiosus und Coli stark keimtötende Kraft zu, seine Versuche erfolgten jedoch nur bei Bruttemperatur und die Mitteilungen lassen auch nicht erkennen, ob die Versuchsanstellung in gleich umfassender und sorgfältiger Weise wie von Kolle durchgeführt wurde. Nach Hippius wurde die bakterizide Fähigkeit nicht aufgehoben, sondern nur abgeschwächt, wenn die Milch 1/2 Stunde bei 65 ° pasteurisiert wurde. Erst Erhitzen auf 85 °, wenn es länger als 2 Minuten dauerte, soll erhebliche Minderung der bakteriziden Kraft im Gefolge haben. Die Angaben der verschiedenen Autoren lauten also teilweise recht widersprechend.

Milch jener bereits erwähnten Kuh No. 155 verhielt, welche, obwohl gesund, doch vorübergehend einen über die Normale anschwellenden Leukocytengehalt aufwies. Es wurde ermittelt:

den 25. März Leukocytengehalt	=	1 Prom.
Keimgehalt pro Kubikzentimeter Frischmilch	=	154 (Mittel aus 6 Parallelen) Agar bei 38° 5 Tage
Nach 18-stündiger Aufbewahrung bei 8° im Eisschrank	=	71 (Abnahme 53,9 Proz.)
Nach 42 Stunden desgl.	=	141 (Abnahme 25,98 Proz.)
den 26. März Leukocytengehalt	=	0,6 Prom.
Keimgehalt pro Kubikcentimeter Frischmilch	=	435
Nach 18 Stunden	=	374 (Abnahme 14 Proz.)
Nach 42 Stunden	=	255 (Abnahme 41,38 Proz.)

Leider bin ich nur diesen einen Fall anzuführen in der Lage, denn eine ähnliche Erscheinung wiederholte sich während der Dauer dieser Versuche nicht.

Wenn man schon diesem einzelnen Versuche eine Bedeutung beimessen will, könnte man annehmen, daß die Erhöhung des Leukocytengehaltes am 23. März vorübergehend innerhalb 16 Stunden eine stärkere Keimabnahme bewirkt hat. Indes muß demgegenüber auf Grund der Tabelle A betont werden, daß eine ähnlich starke Abnahme nach 16 Stunden im allgemeinen nicht zu den Ausnahmen gehören dürfte. Auch bei der an leichter Mastitis erkrankten Kuh No. 164 (vergl. Versuch 30 vom 12. September) mit 1,4 Prom. Leukocyten konnte konstatiert werden, daß die Verminderung der kühl aufgestellten Milch nach 16 Stunden wesentlich höher war als der Durchschnitt. Zugegeben, daß eine Vermehrung der Leukocyten stärkere Keimabnahme innerhalb der ersten 16 Stunden bedingt, hätte diese Tatsache doch nur ein wissenschaftliches Interesse.

Wohl aber geht aus den weiter oben mitgeteilten Resultaten aufs neue deutlich hervor, von wie großer Bedeutung rasche Tiefkühlung und kalte Aufbewahrung für die Qualität der Milch sind. Daß in vereinzelten Fällen eine Zunahme der Keime selbst bei kühler Temperatur stattgefunden hat, dürfte zu Einwänden keinen Anlaß geben, nachdem schon die Rede davon war, daß der Plattenzählmethode gewisse Mängel anhaften.

Es ist bekannt, daß die Wirkung der Kühlung durch voraufgehende Pasteurisation noch erheblich überboten werden kann, wie bedeutend aber die Keimverminderung bei der von vornherein bakterienarmen Milch schon bei verhältnismäßig geringer Erwärmung sein kana, geht klar aus Tabelle B hervor.

Aus dem Durchschnitt der 35 Einzelversuche ergibt sich, daß die Pasteurisation mit nachfolgender Tiefkühlung (vergl. oben) eine sehr starke Abnahme des Keimgehaltes bewirkt hat. In der erhitzten Milch wurden 92,82 Proz. weniger Keime gefunden als in der Frischmilch. In keinem Falle war der Keimgehalt höher als vor dem Pasteurisieren, in mehreren Fällen betrug die Verminderung, rein theoretisch genommen, sogar 100 Proz.

Diese Tatsache, nämlich, daß schon die Schwachpasteurisation sehr wirksam sich erweist, dürfte für die Praxis doch der Beachtung wert sein. Es kann vielleicht angezeigt erscheinen, unter günstigen Stallverhältnissen von der kostspieligen Errichtung eigens zu erbauender Melkräume abzusehen, um stattdessen lieber die keimarm gewonnene Milch nach ihrer Abfüllung auf Flaschen einer schwachen Pasteurisation mit nachfolgender starker Abkühlung zu unterziehen. Kolle konnte durch

Pasteurisieren — allerdings wesentlich länger, eine Stunde lang und bei höherer Temperatur, nämlich bei 60°, unter anderen Verhältnissen hat er nicht geprüft, — frische keimarme Milch fast stets keimfrei oder doch so keimarm machen, daß ihre Haltbarkeit sehr verbessert wurde. Er kam ferner zu dem Ergebnis, daß dabei sogar alle pathogenen Keime, welche vom Darm aus den Menschen infizieren können, abgetötet werden. Solange nun noch nicht ermittelt ist, ob schon der kürzere Pasteurisationsprozeß bei 55—58° geeignet ist, pathogene Bakterien in ihrer Wirksamkeit zu schädigen, wird dies Verfahren nur dann zu empfehlen sein, wenn es sich um keimarme Milch handelt, die ausschließlich von gesunden Tieren stammt. Die trotz aller Vorsicht nicht immer auszuschließenden Sporen der Heu- und Kartoffelbacillengruppe dürften in der bei 6—8° aufbewahrten Milch kaum zu fürchten sein.

So würde sich die Schwachpasteurisation zufolge ihrer größeren Einfachheit vielleicht mehr noch empfehlen als das neuerdings von Seiffert in Vorschlag gebrachte Verfahren der Entkeimung mit ultravioletten Strahlen, welches auch besondere elektrische Anlagen voraussetzt.

Die von mir gewonnene keimarme Rohmilch hielt sich in sterilen Flaschen von 1 l Inhalt bei Zimmertemperatur einige Tage unverändert, auch im Geschmack. Im Eisschrank bei 6—8° blieb sie mindestens 8 Tage hindurch rein und wohlschmeckend. Alsdann kamen aber doch die sogenannten psychrotoleranten Fäulnisbakterien zur Herrschaft, diese sind bei einem den gewöhnlichen praktischen Verhältnissen nahekommenden Melkverfahren mit Sicherheit niemals gänzlich auszuschließen. Unter diesen Fäulnisbakterien spielt, wie ich mich mehrfach überzeugen konnte, der fast allgegenwärtige Bac. fluorescens liquefaciens die erste Rolle.

Die pasteurisierte Milch konnte sich bei Zimmertemperatur im allgemeinen auch nur wenige Tage länger unverändert erhalten (d. h. in Bezug auf Geschmack und Qualität), wesentlich überlegen zeigte sie sich aber bei längerer Aufbewahrung im Eisschrank. Es war nichts Seltenes, daß der Geschmack selbst nach einem Monat noch tadellos sich zeigte. Diese bessere Haltbarkeit hatte ihren Grund darin, daß die psychrotoleranten Fäulnisbakterien schon infolge der Schwachpasteurisation fast vollständig vernichtet werden. Bezüglich Bac. fluor. liquefaciens geht dies aus folgendem von mir angestellten Versuche hervor: Je eine 4 mm Durchmesser haltende Platinöse mit aus frischer Milch isolierter Reinkultur von Bac. fluorescens liquefaciens (von Agar entnommen) wurde in 6 je 10 ccm Bouillon enthaltende sterile Röhrchen verrieben. Sämtliche Röhrchen wurden 10 Minuten lang im Wasserbade auf 55° erhitzt, dann eine Stunde in Eiswasser von 4° eingestellt und darauf zur einen Hälfte bei Zimmertemperatur zur anderen im Brutschranke aufbewahrt. Es ließ sich selbst nach mehreren Tagen keine Vermehrung erkennen, wie durch das negative Resultat wiederholter Aussaaten der also behandelten Bouillon auf Agar erwiesen wurde. In den nicht erhitzten Kontrollröhrchen kam es dagegen zu lebhafter Entwickelung. Etwas widerstandsfähiger zeigte sich das gleichfalls aus frischer Milch isolierte Bact. prodigiosum: bei 55° ergab sich unter analogen Bedingungen nur eine stärkere Hemmung, die sich zunächst durch geringeres Wachstum dartat, erst bei 60° war nach 10 Minuten langer Erhitzung völlige Vernichtung erfolgt. Um nun auch das Verhalten der widerstandsfähigeren, sogenannten Euterkokken zu prüfen,

habe ich einen in aseptisch gewonnener Milch häufig fast regelmäßig anzutreffenden, langsam verflüssigenden Coccus, welcher der Gruppe des Micrococcus pyogenes albus nahesteht und des öfteren auch in pasteurisierter Milch gefunden wurde, isoliert und in gleicher Weise geprüft. Nach 10 Minuten langer Erwärmung auf 55° ergab sich (Mittel aus 6 Einzelversuchen wie oben), daß eine Verminderung von 6480000 Keimen auf 104783 Keime stattgefunden hatte. Dies würde eine Verminderung um 98,38 Proz. bedeuten. Wie man sieht, nähert sich diese Zahl dem oben angeführten, aus 35 Versuchen sich ergebenden Mittelwerte von 92,82 Proz.

Weitere Keimabnahme wurde, wie bereits hervorgehoben, bei der im Eisschranke aufbewahrten pasteurisierten Milch weder nach 16 noch nach 40 Stunden beobachtet.

Nach 16 Stunden betrug der mittlere Gehalt 89,12 Proz. des Anfangswertes, nach 40 Stunden 88,36 Proz. Er war also ziemlich gleich geblieben, man könnte von einer geringen Erhöhung sprechen, wenn dieselbe nicht so geringfügig wäre, daß sie wohl noch innerhalb der Fehlergrenze liegen dürfte. Sonst würde sich die kleine Zunahme also erklären lassen, daß durch das Erhitzen zunächst die weniger widerstandsfähigen Keime (wie früher bereits angedeutet) abgetötet werden, die überlebende kräftigere Generation hingegen vermag sich allmählich den veränderten Verhältnissen anzupassen.

Schließlich habe ich noch über das Verhalten der keimarmen Milch in der Gärprobe zu berichten. Es ergab sich, daß, mit Ausnahme der beiden Versuche No. 29 und 30, nach 24-stündigem Aufenthalt der rohen Milch im Brutschrank bei 38° keine sichtlich wahrnehmbare Veränderung eintrat, auch nicht bezüglich der Reaktion gegen Lackmuspapier. Da sich nun die verschiedensten nicht aseptisch ermolkenen Milchsorten, welche ich zu vergleichenden Versuchen herangezogen habe, in dieser Beziehung ganz anders zeigten und oft schon nach 12 Stunden starke Zersetzung aufwiesen, so kann die Gärprobe als ein sehr einfaches und zuverlässiges Mittel empfohlen werden, um festzustellen, ob tatsächlich keimarme Milch zur Untersuchung vorliegt.

Da sich in der aseptisch gewonnenen Milch die eigentlichen Milchsäurebakterien oftmals gar nicht oder nur sehr spärlich antreffen lassen, wird man auch nicht erwarten können, daß die schließlich nach längerer Zeit im Brutschranke doch eintretende Zersetzung dasselbe Bild zeigt, wie es Peter für Milch erster Güte verlangt. Sein Verfahren wurde zunächst nur für die Zwecke der Käserei ausgearbeitet. Keimarme Milch gerann bei meinen Versuchen niemals in normaler Weise, auch nicht bei Aufbewahrung im Zimmer (in dieser Beziehung stimme ich nicht mit Willelm und Minne überein), sondern es ergab sich immer der 3. und 4. Typus der Peterschen Gärprobentabelle: käsige bis ziegerige Ausscheidung, zumeist wird der Käsestoff nach 30, oft erst nach 40 Stunden unter Bildung weißlicher Molken in griesiger oder flockiger Form ausgepreßt. Ganz ähnlich verhält es sich, wenn sogenannte Euterkokken oder Bac. fluorescens liquefaciens auf bei möglichst niedriger Temperatur sterilisierte Milch geimpft werden. (Bei gekochter Milch ist das Zersetzungsbild ganz anders, die Ausscheidung ist dann mehr grobflockig.) Es muß dies hier hervorgehoben werden, da nach den Grundsätzen des von der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft neuerdings eingeführten Preisbewerbs in frischer Milch die ursprünglich besonders

für Schweizer Verhältnisse geltenden Vorschriften vielleicht etwas zu einseitig adoptiert wurden.

In der nach dem angegebenen Verfahren gewonnenen keimarmen Milch dürfen sich aber Gärungsblasen weder unten in der Flüssigkeit selbst, noch oben in der Rahmschicht zeigen.

Diese Gärversuche führten mich nun bezüglich der nach gewöhnlicher Art gewonnenen Mischmilch des Rassenstalles vom Landwirtschaftlichen Institut zu dem interessanten Ergebnis, daß nach 12-stündiger Dauer fast regelmäßig blähende Milch mit starker Gasbildung erhalten wurde. Trotz allergrößter Sorgfalt und verdoppelter Reinlichkeit wollte dieser Fehler nicht weichen. Sämtliche Kühe, einzeln geprüft, ergaben normale Milch, welche sich wie die keimarme verhielt. Die Gärung blieb nur aus, wenn sterilisierte Gefäße verwendet wurden. Ausscheuern mit Sodalauge, Waschungen des Euters selbst mit formalinhaltigen Lösungen erwiesen sich nicht ausreichend, das Uebel in nachhaltiger Weise zu bekämpfen. Es blieb mir nur übrig, anzunehmen, daß die große durch die Asepsis mitbedingte Sauberkeit des Stalles und der Molkereiräume nach und nach ein gänzliches Verschwinden der eigentlichen Milchsäurebakterien bewirkt hatte; so konnten die aus den Fäkalien immer wieder neu hinzugeführten Blähungserreger ungeschwächt zu freier Entfaltung ihrer unheilvollen Eigenschaften gelangen. Deshalb versuchte ich und zwar gleich mit günstigem Erfolge, die verschwundenen Milchsäurebakterien durch Impfung wieder in den Betrieb hineinzubringen. Zu diesem Zwecke wurden von einer anderen gut säuernden Milch, welche einer bäuerlichen Wirtschaft entstammte, nach 48-stündiger Aufbewahrung bei 30° Reinkulturen von Streptococcus Güntheri gezüchtet und auf 6 Reagenzröhrchen, welche je 10 ccm sterile peptonisierte Milch enthielten, in nicht zu knappen Mengen übertragen. Nach eintägiger Kultur bei 30° wurden die Röhrchen in die zur Aufnahme der Milch bestimmten Misch- und Sammelgefäße entleert.

Der Erfolg ist aus folgenden Angaben ersichtlich, welche dem Milchanalysenbuche des Institutes entnommen sind:

1907	Milchgärprobe[1])	Acidität nach Soxhlet und Henkel frisch	nach 24 St. bei 20°	Keimzahl
den 2. Okt.	Typus Bl 3	7,30	8,9	42 000

Am 10. Oktober erfolgte die Impfung mit Streptococcus Güntheri.

den 17. Okt.	Typus gr 1	6,8	13,0	76 334

Nach 17 Tagen stellte sich abermals Gärung ein:

den 4. Nov.	Typus Bl 3	7,0	8,0	199 000

deshalb erfolgte am 7. November abermalige Impfung, derzufolge die Gärung wiederum unterdrückt wurde:

am 19. Nov.	Typus kz 2	7,6	7,8	21 000

das trotz der Impfung ausbleibende Steigen der Acidität dürfte sich dadurch erklären, daß infolge der eingetretenen kühleren Witterung — der Oktober hingegen war abnorm warm — intensivere Verbreitung der Mischsäurebakterien im Betriebe nicht erfolgen konnte. Auch dieses Mal hielt die Wirkung der Impfungen nur ca. 14 Tage an, denn es ergab sich für

den 3. Dez.	Typus Bl 1	8,0	9,1	102 000

1) Abkürzungen nach Düggeli, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 41.

Eine dritte Impfung zeitigte wiederum gleiches Ergebnis: Unterdrückung der Gärung.

Die mitgeteilten Erfahrungen lassen es also angezeigt erscheinen, unter den gegebenen Verhältnissen eine regelmäßige Impfung mit Milchsäurebakterien, etwa in 8—10-tägigen Pausen, vorzunehmen. Denn die Gärung, welche bei Grünfütterung in den Herbstmonaten besonders intensiv auftritt, dürfte, da sie, wie durch wiederholte bakteriologische Analysen ermittelt wurde, in vorliegenden Fällen stets durch Bact. lactis aërogenes verursacht wurde, im allgemeinen vielleicht in engerem Zusammenhange mit der im Spätsommer häufig beobachteten Steigerung der Verdauungskrankheiten bei Säuglingen stehen und deshalb muß sie auf das nachdrücklichste bekämpft werden.

Im Anschluß teile ich hier noch die Ergebnisse einiger Milchuntersuchungen mit von Sorten, welche in Leipzig als Musterkindermilch zu erhöhten Preisen verkauft wird.

Lieferant 1907	Leukocytengehalt	Gärprobe (Beobachtungszeit 16—18 Stunden)	Keimgehalt	Bemerkung
19. April A.	0,6	Bl 3	67 500	sehr sauber gemolken
6. Juni A.	0,5	Bl 2	18 700	sehr sauber gemolken
6. „ B.	0,4	gr 1	30 700	„
6. „ C.	Spur	gl 3	102 600	„
18. Sept. A.	0,5	gr 1	205 300	„
18. „ B.	0,3	Bl 2	72 300	„
18. „ C.	0,3	gr 3	187 000	„
13. Nov. B.	0,4	gl 3	110 300	„

Ferner folgen die Ergebnisse einer auf Veranlassung des Direktors vom Städtischen Untersuchungsamte, Herrn Dr. A. Röhrig von mir ausgeführten Untersuchungsreihe, betreffend verschiedene Marktmilchsorten, die am 23. Mai 1907 zur Untersuchung eingingen:

1907	Leukocytengehalt	Gärprobe (Beobachtungszeit 16—18 Stunden)	Keimgehalt	Bemerkung
No. 51	Spur	gl 2	12 120 000	rein
„ 68	do.	gl 2	7 040 000	do.
„ 85	0,7	Bl 1	303 000	viel Schmutz
„ 92	0,6	Bl 1	810 000	do.
„ 96	0,75	gl 3	212 000	wenig Schmutz
„ 97	0,9—0,1	gr 1	260 000	kein „

Es geht also auch aus diesen Ergebnissen, besonders bei der Vorzugsmilch hervor, daß die keimärmere, aber nicht aseptisch gewonnene Milch nicht immer die beste ist, sondern weit eher zum Gären neigt, als ein verhältnismäßig keimreiches Produkt.

Man wird sich also, wenn man sicher zu einwandfreier Milch gelangen will, entschließen müssen, nicht bei halben Maßregeln stehen zu bleiben, und den Betrieb mit ausgewählten Kühen nicht nur sehr reinlich gestalten, sondern man muß auch sterile Gefäße in Anwendung bringen. Andererseits läuft man Gefahr, daß die Gärungsbakterien die Oberherrschaft gewinnen. In diesem Falle würde es, da regelmäßige Impfung der Milch mit Milchsäurebakterien doch wohl nicht ohne Einschränkung empfohlen werden kann, vielleicht besser sein, bei dem hergebrachten landläufigen Betrieb zu bleiben und auf die Herstellung hygienisch einwandfreier Milch zu verzichten. (Womit freilich nicht gesagt sein soll, daß die Milch nicht reinlich gewonnen werden müßte.)

Ueber die Produktionskosten der von mir befolgten Verfahren zur Gewinnung keimarmer Milch kann ich leider keine genaueren Angaben machen. Als Hinweis diene nur die Tatsache, daß zum aseptischen

Tabelle A.

Vers.-No.	Datum	Rasse und No. der Kühe	Leukocyten nach Trommsdorff Prom. (2 Bestimmungen)	Keimzahl pro ccm: a Sofort nach dem Melken	b Nach 1 St. Kühlen	Verminderung in Proz. von a	c Nach 16 St. i. Eisschrank bei 6—8°	Verminderung in Proz. von a	d Nach 40 St. i. Eisschrank bei 6—8°	Verminderung in Proz. von a
	1906									
1	20./11.	148 Angler, 137 Ostfriese, 141 Simmentaler	0,5	966	1133	(+ 17,30)	800	17,20	333	65,50
2	22./11.	129 Ostfriese, 146 Oldenburger, 149 Angler	0,3	533	466	12,57	1033	(+ 93,80)	533	± 0
3	27./11.	137 Ostfriese, 142 Harzer, 144 Schwyzer	0,5—0,6	633	500	21,03	300	52,61	166	73,78
4	29./11.	130 Landkuh, 140 Landkuh, 149 Angler	0,3—0,4	533	566	(+ 6,20)	466	12,57	300	43,70
5	4./12.	129 Ostfriese, 146 Oldenburger, 148 Angler, 149 Angler	0,5—0,6	216	140	35,20	100	53,70	80	63,00
6	6./12.	130 Landkuh, 137 Ostfriese, 140 Landkuh, 147 Landkuh	0,3—0,4	400	340	15,00	286	28,50	300	25,00
7	11./12.	137 Ostfriese, 142 Harzer, 147 Landkuh, 148 Angler	0,4	413	600	(+ 45,20)	547	(+ 32,40)	346	16,22
8	13./12.	137 Ostfriese, 147 Landkuh, 141 Simmentaler, 129 Ostfriese	0,4—0,5	573	453	20,94	546	4,70	546	4,70
	1907									
9	17./1.	93, 148, 149 Angler, 136 Landkuh	0,2	100	100	± 0	200	(+100,00)	33	67,00
10	12./2.	122 Glan-Donnersberg, 146 Wesermarsch, 129 Rot. Ostfriese, 137 Ostfriese	0,2—0,3	170	190	(+ 11,17)	170	± 0	133	21,80
11	14./2.	140 Landkuh, 141 Simmentaler, 144 Schwyzer, 154 Landkuh	0,1—0,2	45	33	26,70	93	(+106,7)	107	(+137,7)
12	19./2.	122 Glan-Donnersberg, 137 Ostfriese, 129 Ostfriese, 146 Oldenburger	0,1—0,2	304	284	6,60	193	36,50	103	66,10
13	21./2.	93 Angler, 136 Landkuh, 148 Angler, 150 Angler	0,2—0,3	453	360	20,50	343	24,30	297	34,30
14	28./2.	137 Ostfriese, 122 Glan-Donnersberg, 129 Ostfriese, 140 Oldenburger	0,2—0,3	143	147	(+ 2,80)	440	(+207,70)	87	39,16
15	6./3.	154 Landkuh, 148 Angler, 141 Simmentaler, 144 Schwyzer	0,2	380	770	(+102,60)	657	(+ 72,90)	430	(+ 13,20)
16	13./3.	149 Angler, 146 Wesermarsch, 148 Angler, 137 Ostfriese	0,2—0,3	64	70	(+ 9,30)	60	6,25	137	(+114,0)
17	20./3.	148 Angler, 146 Wesermarsch, 137 Ostfriese, 122 Glan-Donnersberg	0,1	170	210	(+ 23,50)	120	29,40	153	10,00
18	25./3.	155 Pinzgauer	1,0	154	—	—	71	53,90	114	25,98
19	26./3.	155 Pinzgauer	0,6	435	—	—	374	14,00	255	41,40
20	25./4.	148 Angler, 155, 156, 157 Pinzgauer	0,2—0,3	300	170	43,33	150	50,00	150	50,00
21	30./4.	93, 149, 150, 151 Angler	0,2—0,3	54	54	± 0	54	± 0	110	(+103,70)
22	30./5.	93, 148 Angler, 135 Frankenvieh, 122 Glan-Donnersberger	0,2	131	80	38,94	63	51,91	63	51,91
23	3./6.	155, 156, 157 Pinzgauer, 158 Rot. Ostfriese	0,3	147	97	34,02	90	38,77	180	(+ 22,40)
24	18./6.	155, 157 Pinzgauer, 148 Angler, 158 Ostfriese	0,3	390	371	4,87	363	6,92	340	12,82

Vers.-No.	Datum	Rasse und No. der Kühe	Leukocyten nach Trommsdorff Prom. (2 Bestimmungen)	Keimzahl pro ccm: a Sofort nach dem Melken	b Nach 1 St. Kühlen	Vermin-derung in Proz. von a	c Nach 16 St. i. Eis-schrank bei 6—8°	Vermin-derung in Proz. von a	d Nach 40 St. im Eis-schrank bei 6—8°	Vermin-derung in Proz. von a
	1907									
25	26./6.	135 Frankenvieh, 159 Breitenburger, 93 Angler, 160 Breitenburger	0,1	243	180	25,93	347	(+ 42,8)	274	(+ 12,70)
26	1./7.	155, 157 Pinzgauer, 158 Ostfriese, 159 Breitenburger	0,3	200	220	(+ 10,00)	250	(+ 25,00)	274	(+ 37,00)
27	2./7.	162 Franken, 163 Holstein. Marsch, 148 Angler, 122 Glan	0,4—0,5	930	634	31,83	537	42,26	527	43,34
27a	2./8.	135 Frankenvieh, 155, 157 Pinzgauer, 164 Breitenburger	0,3	683	Nähere Untersuchungen wurden in dieser Zeit nicht ausgeführt					
27b	8./8.	93 Angler, 130 Landkuh, 150 Angler, 151 Angler	0,4	800						
27c	23./8.	163 Holst. Marsch, 149 Angler, 166 Ostfriese, 167 Ostfriese	0,3	1010						
28	28./8.	129 Rot. Ostfriese, 159 Breitenburger, 135 Gelb Frankenvieh, 165 Ostfriese	0,4	393	240	38,93	187	52,42	197	49,80
29	5./9.	130 Landkuh, 93 Angler, 164 Breitenburger, 162 Gelb Frankenvieh	0,6 (Gärt in der Milchgärprobe)	803	400	50,19	450	43,96	430	46,45
30	12./9.	164 Breitenburger	1,4 gärt	290	223	23,10	80	72,42	120	58,62
31	19./9.	93 Angler, 130 Landkuh, 162 Gelb Frankenvieh	Spur	353	330	6,52	254	28,05	273	22,66
32	23./9.	130 Landkuh, 150 Angler, 166 Ostfriese, 151 Angler	0,3	257	120	53,31	110	57,20	100	61,09
33	3./10.	148 Angler, 156 Pinzgauer, 149 Angler, 163 Holst. Marsch	0,5	163	130	20,25	94	42,33	244	(+ 49,60)
34	10./10.	93 Angler, 150 Angler, 135 Gelb Frankenvieh, 151 Angler	0,3—0,4	1113	894	19,68	480	56,88	390	64,96
35	23./10.	93 Angler, 149 Angler, 135 Gelb Frankenvieh, 66 Ostfriese	0,2	723	637	11,89	620	14,25	470	35,00
36	28./10.	93 Angler, 162 Frankenvieh, 160 Breitenburger, 151 Angler	0,2	713	636	10,80	628	11,92	683	4,21
37	7./11.	158 Rot. Ostfriese, 162 Franken, 159 Breitenburger, 163 Holst. Marsch	0,2—0,3	363	326	10,19	257	29,20	233	35,81

Melken mindestens die Hälfte mehr Zeit und Arbeitsaufwand erforderlich sind als unter gewöhnlichen Verhältnissen für Erzeugung guter „Kindermilch". Demzufolge und unter Berücksichtigung der unbedingt nötigen peinlichen Aufsicht dürfte sich ein über das Doppelte hinausgehender Preis gegenüber gewöhnlicher Marktmilch erster Sorte wohl rechtfertigen.

Literatur.

1) Kuntze, W., Aseptische Milchgewinnung und bakteriologische Betriebskontrolle. (Milchzeitung. 1906. No. 41—44. Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 509.)

2) Willem, Miele und Minne, Revue génér. du lait. 1905. No. 6, 7, 18. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 552.)

3) Lux, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 195.

4) Kolle, Milchhygienische Untersuchungen. (Sep.-Abdr. a. d. Klin. Jahrb. Bd. XIII. Jena 1904.)

Tabelle B.

Vers.-No.	Datum	Keimzahl pro ccm a Sofort nach dem Melken	b Nach 10 Min. Erhitzen auf 55 bis 58° und 1 Stde. kühlen	Verminderung in Proz. von a	c Nach 16 Stdn. im Eisschrank bei 6—8°	Verminderung in Proz. von a	d Nach 40 Stdn. im Eisschrank bei 6—8°	Verminderung in Proz. von a
	1906							
1	20./11.	966	67	93,06	266	72,50	200	79,30
2	22./11.	533	67	87,43	34	93,62	70	86,90
3	27./11.	633	33	94,79	170	73,15	66	89,58
4	29./11.	533	20	96,25	66	87,60	57	89,30
5	4./12.	216	—	100,00	—	100,00	20	90,70
6	6./12.	400	33	91,75	27	93,20	27	93,20
7	11./12.	413	33	92,01	33	92,01	250	39,47
8	13./12.	573	50	91,27	96	83,20	123	78,50
	1907							
9	17./1.	100	—	100,00	—	100,00	33	67,00
10	12./2.	170	40	76,50	17	90,00	100	41,20
11	14./2.	45	7	84,40	20	55,60	14	96,89
12	19./2.	304	14	53,90	14	53,90	20	93,42
13	21./2.	453	—	100,00	7	98,45	10	95,58
14	28./2.	143	10	93,00	3	97,90	7	95,10
15	6./3.	380	313	17,60	420	(+10,50)	257	32,40
16	13./3.	64	20	68,75	20	68,75	40	37,50
17	20./3.	170	10	94,11	10	94,11	10	94,11
18	25./3.	—	—	—	—	—	—	—
19	26./3.	—	—	—	—	—	—	—
20	25./4.	300	14	53,30	70	76,67	70	76,70
21	30./4.	54	10	81,48	33	38,89	70	(+29,60)
22	30./5.	131	33	74,80	20	84,74	15	88,55
23	3./6.	147	15	89,80	7	52,38	5	96,60
24	18./6.	390	7	98,19	7	98,19	3	99,23
25	26./6.	243	27	88,89	13	94,65	14	94,24
26	1./7.	200	—	100,00	3	98,50	7	96,50
27	2./7.	930	8	99,14	4	99,57	2	99,79
28	28./8.	393	5	98,73	4	98,98	2	99,49
29	5./9.	803	10	98,76	6	99,25	2	99,75
30	12./9.	290	22	92,42	35	87,93	21	92,76
31	19./9.	353	7	98,02	4	98,87	2	99,43
32	23./9.	257	12	95,33	4	98,44	5	98,05
33	3./10.	163	18	88,96	15	90,80	10	93,86
34	10./10.	1113	12	98,92	8	99,28	4	99,64
35	23./10.	723	43	94,05	17	97,65	33	95,44
36	28./10.	713	16	97,76	32	95,51	16	97,76
37	7./11.	363	5	98,62	2	99,45	5	98,62

5) Rullmann und Trommsdorff, Milchhygienische Untersuchungen. (Sonder-Abdruck aus dem Arch. f. Hygiene. Bd. LIX. p. 224.)
6) Hempel, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 7.
7) Kirchner, W., Handbuch der Milchwirtschaft. Berlin 1907. p. 117.
8) Deutsche milchw. Ztg. 1906. p. 211.
9) Backhaus, Milchzeitung. 1906. p. 169.
10) Peter A. vgl. Düggeli, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. p. 41.
11) Vgl. 9. p. 170.
12) Milchzeitung. 1906. p. 206.
13) Backhaus, Berichte des Landw. Instituts der Universität Königsberg i. Pr. Bd. II. 1898. Bd. V. 1900.
14) Küster, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XL. p. 270.

15) Koning, Biologische und biochemische Studien über Milch. Leipzig 1906. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 427.)
16) Hiltner und Störmer, Arb. a. d. biol. Abt. d. Kais. Ges. Bd. III. p. 449.
17) Arnold, Milchzeitung. 1902. p. 247.
18) Storch, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel. 1899. p. 239.
19) Barthel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. No. 10.
20) Koning, l. c. p. 29 u. f.
21) Hesse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 238. — Uffelmann, Berl. klin. Wochenschr. 1892. p. 1210. — Weigmann und Zirn, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XV. p. 286.
22) Kolle, l. c. p. 26. Tab. 8.
23) Smith und Swingle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 357.
25) Rullmann und Trommsdorff, l. c. p. 264.

Referate.

Albert und **Zimmermann**, Besteht ein Zusammenhang zwischen Bodenbeschaffenheit und Wurzelerkrankung der Kiefer auf aufgeforstetem Ackerland? (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1907. Heft 5 und 6.)

Verff. behandeln die Frage nach der Ursache des oft beobachteten Absterbens von auf altem Ackerlande angebauten Kiefern, erwähnen die Bedeutung, welche der Polyporus annosus für diese Schädigung etwa nach den bisherigen Untersuchungen besitzen kann, und berichten, wie sie besonders durch chemische und zum Teil physikalische Bodenuntersuchung zu einem umfassenderen Urteil über die vorliegende Frage zu kommen suchten.

Zunächst scheint mit ziemlicher Sicherheit sich zu ergeben, daß jedenfalls Nährstoffarmut nicht die Ursache des Baumsterbens auf dem alten Ackerlande ist, wie dies auch die Verff. von Anbeginn nicht anders erwarteten. Dagegen erwies sich das Porenvolumen des Bodens durchgehend auf dem alten Ackerland, das durch die Schädigung heimgesucht wurde, als bedeutend geringer als auf benachbartem, gleichartigem alten Waldboden. Die Verff. nehmen nun auf Grund ihrer recht umfangreichen Feststellungen an, daß bei dem Absterben von Kiefernbeständen auf altem Ackerland infolge der dichten Bodenlagerung und der durch die alte Ackerkrume begünstigten oberflächlichen Verbreitung der Ernährungswurzeln zunächst nahezu alle Bäume wurzelkrank werden. Diese anfangs auftretende Wurzelerkrankung wird nun, soweit kein Pilzbefall eintritt, durch Erneuerung des Wurzelsystems allmählich ausgeheilt und hat nur ein vorübergehendes Stocken des Höhenwuchses zur Folge. Tritt aber in dieser Zeit Ansteckung durch Polyporus annosus hinzu, so ist der Baum verloren. Er überträgt dann, durch Wurzelberührung, oder anderweit, den Pilz auf seine Nachbaren, und es entstehen die eigenartigen Pilzlücken. — Ob die früher von Hartig empfohlenen Isoliergräben in diesem Falle nützlich zu wirken vermögen, wofür vielleicht die in Charlottenhof gemachten Erfahrungen zu sprechen scheinen, ist jedenfalls erneut nachzuprüfen.

Im übrigen konnten die Verff. feststellen, daß die Wurzelerkrankung der Kiefer und Fichte eine Erscheinung ist, welche mit unfehlbarer Sicherheit auf jedem in Forstkultur genommenen früheren Ackerlande auftritt. Die gleiche Erscheinung zeigt sich aber, vermutlich aus den gleichen Gründen, auch bei der Aufforstung von Heideland, und wird

wahrscheinlich eine Begleiterscheinung der Aufforstung aller Oedländereien sein. Vorbeugungsweise kann daher besonders empfohlen werden, die Kiefer in Anbetracht ihrer geringen bodenbessernden Fähigkeit bei derartigen Neuanlagen gänzlich fortzulassen, und dafür besonders Weißerle, Aspe, Roteiche, Akazie, Birkenarten und ähnliche raschwüchsige, bodenbessernde und früh nutzbare Holzarten zu verwenden, gegebenenfalls in Reihenmischung mit der Kiefer. Zur Auspflanzung von entstehenden Lücken in einmal vorhandenen Kieferbeständen auf altem Ackerboden aber ist die Akazie am meisten geeignet.

Ehrenberg (Breslau).

Neger, F. W., Die wahrscheinliche Ursache des Tannensterbens in Sachsen. (Sitzungsberichte und Abhandlungen der naturwissenschaftlichen Gesellschaft „Isis" in Dresden. Jahrg. 1906. Heft 2. p. 17. 18. Dresden 1907.)

1) In sehr vielen Fällen ist ohne Zweifel Rauchbeschädigung die Ursache. Die Tanne ist aber da, wo sie günstige Lebensbedingungen (frischen mineralkräftigen Boden) findet, kaum rauchempfindlicher als die Fichte; sie findet aber solche günstigste Lebensbedingungen leider nur selten.

2) Aber auch in völlig rauchfreien Gegenden (entlegene Täler der Sächsischen Schweiz, des Fichtel- und Erzgebirges) verschwindet die Tanne. Als Ursache ist der Umstand anzuführen, daß die Bodenverhältnisse durch die ausschließliche Fichtenwirtschaft ungünstig beeinflußt werden. Denn aus alten Waldbeschreibungen geht hervor, daß die Tanne in den oben genannten Gegenden ehemals mit Laubholz (besonders der Buche) stets gemischt auftrat. Wenige Stellen sind da intakt geblieben (z. B. besonders das Olbernhauer Revier, wo die ältesten (200 bis 300 Jahre) Tannen des Erzgebirges sich befinden und recht gut gedeihen). In diesem Revier steht mitunter die Tanne aber in Gesellschaft der Fichte (und nicht der Buche) und da gedeiht die erstere nur schlecht und geht massenhaft ein.

3) Verf. zeigt auch, daß Fichten z. B. im Urwalde ein Alter von 1000—1200 Jahren erreichen, während sie im Kulturlande nur höchstens 150 Jahre alt werden. Matouschek (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Bakterien und ihre Bedeutung im praktischen Leben. (D. dtsche. Essigindustrie. Jg. XI. 1907. N. 46. p. 373—374.)

Bericht über die Tätigkeit der Pflanzenschutzstelle der Landwirtschaftskammer für die Provinz Ostpreußen. 1. Während d. Zeit v. 1. April bis 30. Sept. 1907. Königsberg i. Pr. (Ostpr. Dr.) 1907. 8°.

Braun, Max, Die tierischen Parasiten des Menschen. Ein Handbuch für Studierende und Aerzte. 4. verm. u. verb. Aufl. Mit einem klin.-therapeut. Anh. bearb. v. Otto Seifert. Würzburg (Kabitzsch) 1908. IX, 623 p. 325 Fig. 15 M.

v. Faber, Bericht über die Pflanzenpathologische Expedition nach Kamerun. (Tropenpflanzer. Jg. XI. 1907. N. 11. p. 755—775. 1 Taf. u. 4 Fig.)

Froggatt, W. W., Australian insects. Sydney 1907. XIV, 449 p. 38 Taf. u. 180 Fig. 8⁰.
Kitt, Th., Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin. 5. wiederholt verb. u. umgearb. Aufl. Wien (Perles) 1908. V, 578 p. 8⁰. 4 Taf. u. 200 Fig. 15 M.
Kurze Anleitung zur Ausübung des Pflanzenschutzes. Zum Selbstunterr. u. f. landwirtsch. Schulen bearbeitet von E. Langenbeck. Berlin (P. Parey) 1907. 77 S. 8⁰. Mit 27 Textabb.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Cépède, Casimir, Sur une nouvelle cuvette à coloration à rainures mobiles. (Compt. rend. Soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 33. p. 485—487. 3 Fig.)
Christensen, Harald R., Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden. (Vorl. Mitt.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 735—736.)
Friese, Walter, Ueber die Bestimmung von Formaldehyd in Milch direkt und einige neue Reaktionen dieser Art. (Arb. a. d. kgl. hyg. Instit. Dresden. Bd. II. 1907. Heft 1. p. 109—114.)
Legler, Ludwig, Versuche über Milchsäurebestimmungen, namentlich in most- und zuckerhaltenden Flüssigkeiten nach den von Möslinger angegebenen Methoden. (Arb. a. d. kgl. hyg. Inst. Dresden. Bd. II. 1907. Heft 1. p. 91—108.)
Prausnitz, W., Ein Sterilisationsapparat für Laboratoriumszwecke unter Verwendung von strömendem Dampf. (München. med. Wochenschr. Jg. LIV. 1907. N. 48. p. 2387—2388. 3 Fig.)
Seiffert, G., Vorrichtung zur qualitativen und quantitativen Gasbestimmung bei gasentwickelnden anaëroben Bakterien. (München. med. Wochenschr. Jg. LIV. 1907. N. 46. p. 2285. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Alba, Fasciolo, Considerazioni bibliographiche sulle anomalie dei Cestodi. (Atti Soc. ligustica Sc. nat. e geogr. Anno XVII. 1906. Fasc. 1/2.)
Brezzano, Antonio, Sul rostello delle Davainee. Contributo alla morfologia del rostello (1901). (Lavori Ist. di Anat. comp. Univ. Napoli. Ser. II. Vol. I. 1907. 8 p.)
Brian, Alexandro, Descrizione di un Copepoda parassita del pesce Rombo. (Riv. Ital. Sc. nat. Anno XXVI. 1906. N. 11/12. p. 125—127.)
Cerruti, Attilio, Di un tenioide dell' Alauda arvensis con riguardo speciale ad un organo parauterino (1901). (Lavori Istit. di Anat. Comp. Univ. Napoli. Ser. II. Vol. I. 1907. 8 p.)
Cockerell, T. D. A., Some coccidae from the Philippine Islands. Proc. Davenport Acad. of Sc. Vol. X. 1904—1906. ersch. 1907. p. 127—136.)
Comes, S., L'apparato cromidiale delle gregarine nelle sue relazioni col nucleo: nota prelim. (Boll. Soc. Accad. Gioenia Sc. nat. Catania 1907. Fasc. 93, p. 21—28.)
Contribuzioni alla conoscenza degli insetti dannosi all' olivo e di quelli che con essi hanno rapporti (Martelli, Silvestri, Masi). (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agraria d. R. Scuola Sup. di agric. di Portici. Vol. II. 1907. 82 p. M. Fig.)
Das Weizenälchen. (Schweizer. Samen-Unters.- u. Versuchsanst. Zürich. Flugblatt N. 1. Sept. 1907. 2 p. 2 Fig. 8⁰.)
Del Guercio, G., Intorno ad alcune nuove divisioni del genere Aphis Linné. (Redia, Giorn. di Entomol. Vol. IV. Fasc. 1. p. 190—192.)
Dutton, J. Everret and **Todd, John L.,** A note on the morphology of Spirochaeta Duttoni. (Lancet 1907. Vol. II. 1907. N. 22. p. 1523—1525.)
Felt, E. P., New species of Cecidomyiidae. Bull. St. Mus. Albany 1907. 53 p. 8⁰. 3 M.
Giard, Alfred, Sur les trématodes margaritigènes du Pas-de-Calais (Gymnophallus somateriae Levinsen et G. bursicola Odhner). (Compt. rend. Soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 32. p. 416—420.)
Glinkiewicz, A., Parasiten von Pachyuromys Duprasi Lat. (Eremophthirius Werneri n. g. n. sp.; Xenopsylla pachyuromyidis n. g. n. sp.). Sitzungsber. Wiener Akad. Wiss. 1907. 6 p. 2 Taf. —,80 M.
Green, E. E. and **Mann, Harold H.,** The Coccidae attacking the tea plant in India and Ceylon. (Pusa Agric. Research Inst.) 1907. p. 338—355. 8⁰. (= Memoirs of the Department of Agriculture in India. Entomol. Ser. Vol. I. N. 5.)
Hartmann, Max, Das System der Protozoen. Zugleich vorläufige Mitteilung über Proteosoma (Labbé). (Arch. f. Protistenkunde. Bd. X. 1907. Heft 1. p. 139—157. 3 Fig.)
Herzog, Th., Studien über den Formenkreis des Trichostomum mutabile Br. 31 p. 7 Taf. (= Nova Acta, Abh. d. Leopold-Carol. Akad. d. Naturf. Bd. LXXIII. N. 3.) 7 M.
Johnson, T., Some injurious fungi found in Ireland. (76. Rep. British Assoc. for Advanc. of Sc. York 1907. p. 744.)

Kellogg, V. L., Second collection of Mallophaga from birds of the Galapagos and Revillagigedo Islands and neighboring Waters. (Trans. American Entom. Soc. Philadelphia 1906. 10 p.)
Keysselitz, G., Ueber die undulierende Membran bei Trypanosomen und Spirochäten. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. X. 1907. Heft 1. p. 127—138.)
Kieffer, J. J., Etude sur de nouveaux insects et Phytoptides gallicoles du Bengalen. Ann. Soc. Scientif. Bruxelles 1907. 58 p. 1 Taf. u. 15 Fig. 3 M.
—, Description d'une Cecidomyie nouvelle vivant sur le Geranium. Marcellia 1907. 2 p. —,50 M.
Kreibich, K., Ueber Silberimprägnation von Bakteriengeißeln. (Wiener klin. Wchnschr. Jg. XX. 1907. N. 21. p. 633—634. 1 Fig.)
Krieg, Walther, Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 24/25. p. 771—788. 1 Fig.)
Lange, Ludwig, Vergleichende Studien über Bacterium coli commune und verwandte Bakterien. (Arb. a. d. kgl. hyg. Inst. Dresden. Bd. II. 1907. Heft 1. p. 29—90.)
Leon, N., Diplogonoporus brauni. (Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. N. 12/13. p. 376—379. 5 Fig.)
Marzocchi, Vittorio, Sul cosidetto microsporidio poliedrico del giallume del Bombyx mori. Nota prev. (Giorn. Accad. med. Torino. Anno LXX. 1907. N. 7/8. p. 382—384.)
Moulton, Dudley, A contribution to our knowledge of the Thysanoptera of California. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 6 S. p. 39—68. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of entomology. Technical Series. N. 12.)
Mrázek, Al., Sterilitätserscheinungen bei Cestoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 3. p. 234—235.)
Oudemans, C., Révision des Chélétinés. (Mém. de la Soc. zool. de France. Année 1906. T. XIX. p. 145—218. 66 Fig.)
Patella, V., Protozoi flagellati e corpuscoli di Kurloff-Demel. (Atti Accad. Fisiocritici Siena., Proc. Verb. An. Accad. 216, Ser. 4. Vol. XIX. 1907. N. 1/3. p. 4, 5.)
Pérez, Charles, Dermocystis pusula, organisme nouveau parasite de la peau des Tritons. (Compt. rend. Soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 32. p. 445—446.)
Pierantoni, Umberto, Osservazioni sul parassitismo esercitato da un imenottero su di un Afide degli agrumi (Aphidius aurantii n. sp. e Toxoptera aurantii Fonscol). (Atti d. R. Istit. d'Incoraggiamento di Napoli. Ser. 6. Vol. IV. 1907. 4 p. M. Taf.)
Sacquépée, E., Sur les salmonelloses : les sensibilisatrices. (Compt. rend. Soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 32. p. 421—423.)
Salm, A. J., Haemogregraninen vans slangen, kikvorschen en schildpadden. (Geneesk. tijdschr. voor Nederl. Indie. Deel 47. 1907. Afl. 6. p. 536—543. 1 Taf.)
Sambon, L. W., Descriptions of fine new species of Haemogregarines from snakes. (Proc. Zool. Soc. London 1907. p. 283—284.)
—, Descriptions of som new species of animal parasites. (Proc. Zool. Soc. London 1907. p. 282—283.)
Splendore, A., Breve nota sopra alcuni sarcosporidi di uccelli brasiliani. (Rev. da Soc. scient. de Sao Paulo. 1907. N. 8. p. 115—120. M. Fig.)
de Stefani, T., A proposito della mosca olearia (Dacus oleae Rossi). I canoni del prof. Berlese. (Naturalista Siciliano. Anno XIX. 1907. N. 8/9. p. 174—176.)
Ucke, A., Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 3. p. 231—233. 6 Fig.)
Vallillo, Giovanni, Un' osservazione sull' Eustrongylus gigas. (Clinica veterinaria, Ser. pratica. Anno XXX. 1907. N. 17. p. 277—280. M. Fig.)
Vryburg, A., Zwei neue Nematoden im Darmkanal des Rindes in Deli-Sumatra. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 4. p. 321—332. 5 Taf.)
Weidemann, Carl, Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 675—690. 8 Fig.)

Biologie.

Buchner, Eduard, Erwiderung an Herrn Hugo Fischer. (Ueber Enzyme.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 24/25. p. 799—800.)
Blakeslee, A. F., Zygospore Germinations in the Mucorineae. (76. Rep. British Assoc. for advanc. of Sc. York 1907. p. 751.)
Bottomley, W. B., Nitrifying bacteria in the velamen of certains Orchids. (76. Rep. British Assoc. for Advanc. of Sc. York 1907. p. 753.)
Christophers, S. R., Development of Piroplasma canis in the tick. (British med. Journ. 1907. N. 2445. p. 1333.)
Dobell, C. Clifford, Physiological degeneration in Opalina. (Quart. Journ. microsc. Sc. N. Ser. N. 204. [Vol. LI. P. 4.] p. 633—645. 1 Taf. u. 2 Fig.)
Dubois, Raphael, Action de la chaleur sur le Distome immaturé de Gymnophallus margaritarum. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 34. p. 502—504.)

Garbowski, Ludwik, Ueber Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 641—660; N. 24/25. p. 737—749. 2 Taf. u. 4 Fig.)

Grafe, Viktor, Zur Geschichte der Zymase. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXV. 1907. N. 50. p. 550—552.)

Henneberg, W., Zum Verhalten der Kulturheferassen in zusammengesetzten Nährlösungen. [Schluß.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 45. p. 618—620.)

Huss, Harald, Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien. Pseudomonas fragaroidea nov. spec. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 661—674.)

Isole, D., Nuovo ospite dello Sclerostoma equino. (Atti Soc. ligustica. Sc. nat. Anno XVII. 1906. Fasc. 1/2.)

Krieg, Walther, Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 697—714. 1 Fig.)

Magerstein, Vinz. Th., Enzyme in der Brauerei. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 43. p. 338—339.)

Marchal, P., Contribution à l'étude biologique des Chermes. (Quartr. note). Nouvelles observations sur le Chermes du groupe Ch. piceae Ratz. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 30. p. 368—370.)

Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae Passerini. Die zyklische Fortpflanzung der Pflanzenläuse. (Biol. Centralbl. Bd. XXVII. 1907. N. 23. p. 747—767; N. 24. p. 769—816. 25 Fig.)

Reitz, Adolf, Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 4. p. 374—384; Heft 5. p. 451—466.)

Rottenbach, F. und **Donselt, W.**, Ueber das Vorkommen von Bacterium xylinum in Schnellessigbildnern. (Die dtsche Essigindustrie. Jg. XI. 1907. N. 43. p. 349—350.)

Smith, Geoffrey, The fixation of the Cypris Larva of Sacculina carcini (Thompson) upon its host, Carcinus maenas. (Quart. Journ. microsc. Sc. N. Ser. 1907. N. 204. [Vol. LI. P. 4.) p. 625—632. 6 Fig.)

Staněk, Vlad. und **Miškovský, Old.**, Kann Betain als Stickstoffnährsubstanz der Hefe betrachtet werden? (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 46. p. 566—568.)

Stigell, R., Ueber die Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven einiger Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 4. p. 289—293. 10 Fig.)

Stockhausen, Ferdinand, Oekologie, „Anhäufungen" nach Beijerinck. Beiträge zur natürlichen Reinzucht der Mikroorganismen. Berlin (Springer) 1907. X, 278 p. 8⁰. 11 Fig. 4 M.

Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 3. p. 193—205.)

Weidemann, Carl, Morphologische und physiologische Beschreibung einiger Penicillium-Arten. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 24/25. p. 755—770. 8 Fig.)

Zettnow, E., Ueber Froschlaichbildungen in Saccharose enthaltenden Flüssigkeiten. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 622. 1907. p. 971—988. 4 Taf.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Bellei, Ozonizzazione dell' acqua. (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno XVIII. 1907. N. 23. p. 707—724.)

Courmont, J. et **Lacomme, L.**, La stérilisation par l'ozone des eaux urbaines. (L'hygiène gén. et appl. Année II. 1907. N. 11. p. 642—650.)

Rivas, D., Preliminary report of the predominating microorganisms in feces and sewage, as an index of pollution in drinking water. (Journ. of med. research. Vol. XVII. 1907. N. 1. p. 89—94.)

Nahrungsmittel im Allgemeinen.

Buchan, George F., An outbreak of food poisoning due to eating brawn. (Lancet 1907. Vol. II. N. 23. p. 1604—1606.)

Hueppe, Ferdinand, Nahrungsmittel-Gesetzgebung. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXV. 1907. N. 51. p. 560—562. [Saazer Hopfen- u. Brauer-Ztg.].)

Fleisch.

Edelmann, Richard, Lehrbuch der Fleischhygiene mit besonderer Berücksichtigung der Schlachtvieh- und Fleischbeschau. 7. umgearb. Aufl. Jena (Fischer) 1907. XVI, 404 S. 8.⁰ 201 Fig. u. 2 farb. Taf. 10 M.

Koschel, Otto und **Marschner, L.**, Leitfaden für Fleischbeschauer. Gemeinfaßliche Belehrung über die Fleischbeschaugesetze und die Untersuchung der Schlachttiere und des Fleisches, nebst einer Anleitung zur Ausführung. 3. Aufl. Breslau (Maruschke & Berendt) 1908. VIII, 331 p. 8°. 10 Fig. 4 M.

Milch, Molkerei.

Boekhout, F. W. J. und **de Vries, J. J. Ott**, Ueber den Käsefehler „kort" (kurz). [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 690—696; N. 24/25. p. 750—754. 1 Fig.)

Buttenberg, P. und **Guth, F.**, Ueber Camembert-Käse. (Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. XIV. 1907. Heft 11. p. 677—682.)

Dornic, P. und **Daire, P.**, Die Konservierung der Butter. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXVI. 1907. N. 48. p. 567—568.)

Hempel, Behandlung und Versand der Milch. (Ztschr. d. Landw.-Kammer f. d. H. Braunschweig. Jg. LXXVI. 1907. N. 6. p. 63—65.)

I., Die Bekämpfung der Tuberkulose und die Berliner Milch. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXVI. 1907. N. 48. p. 568—569.)

John, E. Q. St. and **Pennington, M. E.**, The relative rate of growth of milk bacteria in raw and pasteurized Clean milk. (Journ. of infect. dis. Vol. IV. 1907. N. 4. p. 467—656.)

Jones, R. Silva, Cheddar cheese-making. [Schluß.] (Agric. Journ. of the Cape of Good hope. Vol. XXXI. 1907. N. 2. p. 188—194.)

Kaiser, Franz J., Die hygienische Kontrolle der Milchgewinnung. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 45. p. 355—356; N. 46. p. 361—363.)

Mayer, Adolf, Ueber sogenannten kurzen Käse. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXVI. 1907. N. 49. p. 578.)

Müller, Otto, Die Bekämpfung der Rindertuberkulose und die Mitwirkung der Molkerei-Genossenschaften dabei. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVII. 1907. N. 49. p. 577—578.)

Ostertag, R., Die Milchwirtschaft und die Bekämpfung der Rindertuberkulose. [Vortrag.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVII. 1907. N. 45. p. 530—531.)

Ostertag, Die Milchwirtschaft und die Bekämpfung der Rindertuberkulose. [Vortrag.] Berlin (Schoetz) 1907. 12 p. 8°. —,80 M.

Otto, P., Ein Beitrag für die Notwendigkeit der Gewährleistung einwandfreier Beschaffenheit beim Bezuge von Rahmsäuerungs-Reinkulturen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVII. 1907. N. 45. p. 529—530.)

Scherman, H. C., Berg, W. N., Cohen, L. J., Whitman, W. G., Ammonia in milk and its developpement during proteolysis under the influence of strong antiseptics. (Journ. of biol. chemistry. Vol. III. 1907. Fasc. 2.)

Weber, A., Herstellung tadelloser Kindermilch. (Ztschr. f. Säuglingsfürs. Bd. I. 1906/07. N. 12. p. 381—391.)

Weigmann, H., Die hygienische Beurteilung der Pasteurisierapparate des Molkereigewerbes. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. III. 1907. Heft 12. p. 538—547.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 4. Februar 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 15/17.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Bakterienblasen (Bacteriocysten).

[Aus der Schweizerischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.]

Von **Hermann Müller-Thurgau.**

Mit 4 Tafeln.

(Schluß.)

Bacterium gracile (d) sowie Micrococcus cystiopœus (c und i) verhalten sich frei in Obstsaft oder Obstwein lebend anders als Bacterium mannitopœum. Da sie jedoch weniger eingehend untersucht wurden, sei auf die Beschreibung auf Seite 395 u. 396 verwiesen.

Verschiedene der blasenbildenden Bakterien wurden auch in und auf festen Nährböden gezüchtet. Es dürfte genügen, wenn die Ergebnisse hier nur ganz kurz zusammengefaßt werden: Am besten wuchsen die Bakterien in Gelatine, der 5 Proz. eines milden Teilersbirnsaftes zugefügt worden war. Die Kolonieen erscheinen hier wie auch in den anderen Nährböden schneeweiß, bei durchfallendem Licht unter dem Mikroskop je nach der Größe hellgelb-bräunlich bis braun. Oft zeigen sie Kugelgestalt; häufiger noch sind sie etwas abgeflacht bis dick linsenförmig. Unter Umständen kann man an den rundlichen Kolonieen eigenartige Einbuchtungen erkennen, wohl meist dann, wenn die Kolonie aus einer zweiteiligen Bakterie entstand. Bei manchen Versuchen waren die Kolonieen länglich, wurstförmig, stellenweise eingeschnürt, sie wurden von einem gegliederten Bakterienfaden gebildet; die von den einzelnen Gliedern des Fadens gebildeten rundlichen Kolonieen sind dann mehr oder weniger miteinander verschmolzen.

Die Größe der Bakterienkolonieen in Nährgelatine hängt bekanntlich von ihrer gegenseitigen Entfernung ab. Bei den hier in Betracht kommenden Bakterien ist die gegenseitige Beeinflussung eine auffallend starke, indem schon im Anfang der Entwickelung selbst bei relativ weiten Entfernungen ein hemmender Einfluß durch benachbarte stattfindet. Ein Beispiel möge die Größenentwickelung des Bacteriums a in Obstsaftgelatine bei verschiedener Dichte der Kolonieen zeigen.

In je 1 ccm Mostgelatine sind enthalten	Mittlerer Durchmesser der Kolonieen (in Mikromillimetern)		Mittleres Volumen der Kolonieen (in Tausend. v. Kubikmikromillimet.)		Bakterienmasse in 1 ccm Mostgelatine (in Kubikmillimetern)	
	am 20. Tage	am 40. Tage	am 20. Tage	am 40. Tage	am 20. Tage	am 40. Tage
6500 Kolonieen	28	36	11	24	0,071	0,156
650 „	50	90	82	381	0,053	0,248
65 [1]) „	89	187	369	3 422	0,024	0,222
6,5 „	106	439	626	44 280	0,004	0,288

Je mehr die Kolonieen einander genähert sind, desto mehr wird sich der Wettbewerb um die vorhandene Nahrung auf das Wachstum geltend

1) Gezählt, die anderen aus der Verdünnung berechnet.

machen; eine desto geringere Größe werden die Kolonieen überhaupt erreichen. Außerdem werden aber auch die von den Bakterien ausgeschiedenen Stoffe um so früher und intensiver wachstumhemmend wirken, je größer die Zahl der in einer bestimmten Menge Mostgelatine befindlichen Kolonieen ist. Wahrscheinlich ist die geringere schließlich erzeugte Bakterienmasse bei der dichtesten Aussaat auf diesen letzteren Einfluß zurückzuführen.

Wie bei diesen Plattenkulturen, so erzeugten die Bakterienkolonieen auch bei den Strich- und Stichkulturen keine Verflüssigung oder sonstige sichtbare Veränderung der Nährgelatine. Die Striche bestanden aus zahlreichen, schön weißen Einzelkolonieen, die nicht in die Gelatine hineinwuchsen. In den Stichkulturen entwickelten sich dem Stich entlang mehr oder weniger zahlreiche rundliche Einzelkolonieen, und zwar in der Tiefe ebensogut als in der Nähe der Gelatineoberfläche. In der Regel waren sogar die tiefer liegenden Kolonieen größer als die oberflächlichen, was dann aber stets auf einen weniger dichten Stand zurückzuführen war. Wo die Verteilung der Kolonieen in verschiedener Höhe der Gelatine gleichmäßig war, konnte kein Unterschied in der Entwickelung beobachtet werden. Die verschiedenen der zu diesen Versuchen herangezogenen blasenbildenden Bakterien zeigten hierbei das gleiche Verhalten. Dagegen war der Inhalt der Gelatinekolonieen verschieden. Bei Bacterium mannitopœum bestand dieser je nach Beschaffenheit der Nährgelatine und Alter der Kolonieen aus kürzeren oder längeren Stäben, ja unter Umständen sogar aus ineinander verschlungenen Fäden. Im ersteren Fall strömte beim Anschneiden einer Kolonie unter Wasser ihr Inhalt in Form eines Stromes gleichmäßiger Stäbchenbakterien rasch aus; im letzteren Falle lösten sich von der mehr oder weniger verfilzten Masse nur allmählich Stäbchen los, dagegen verblieb oft ein Teil derselben im Zusammenhang und ließ sich selbst mit Nadeln nicht vollständig auflösen. Bei Bacterium gracile (d) bestanden die Kolonieen in Mostgelatine aus kokkenförmigen Bakterien, bei Micrococcus cystiopœus (i) enthielten sie Diplokokken und merismopedienartige Tetraden.

Das Verhalten der Bakterien bei der Bildung der Zooglöen und Blasen wurde schon im Abschnitt III beschrieben und soll hier nur kurz zusammenfassend dargestellt werden. Je nach der Art der Bakterie und dem Medium entstehen in verschiedener Weise durch Zusammenziehen der Fäden und Teilung der Glieder oder durch Teilung allein Zooglöen; diese sind entweder vereinzelt oder zu Gruppen vereinigt. Bei ihren Anfangsstadien wurde wiederholt beobachtet, daß eine Verschmelzung der Bakterien stattfindet, so daß dann eine Zooglöe aus einer fast homogenen Masse besteht. Nach einiger Zeit treten wieder deutlich erkennbare Bakterien auf, die öfters eine unregelmäßig brockige Gestalt besitzen. Durch Teilung gehen dann aus diesen typische Formen, deutliche Stäbchen oder kokkenförmige Kurzstäbchen hervor. Häufig machte es den Eindruck, als ob die brockigen Gebilde tetraederähnliche, aber abgerundete Formen besäßen und daß die durch Teilung entstehenden Bakterien den Ecken entsprechend gelagert wären. Diese eigenartigen, sehr interessanten Vorgänge der Verschmelzung und der Neubildung von Bakterien in den Zooglöen verdienen weitere Beachtung. Von nun an findet eine mehr oder weniger rasche Vermehrung der Bakterien durch Teilung statt; die Zooglöen wachsen. Offenbar sind aber die Bedingungen für dieses Wachstum im gleichen Versuchsgefäß oft sehr ungleich; denn

die Zooglöen erreichen, bis sie zur Blasenbildung übergehen, ganz verschiedene Größe. Den wichtigsten Einfluß bildet die Zufuhr geeigneter Nahrung, dafür spricht schon die auf Seite 376 angeführte Beobachtung, daß bei einem Versuche die an der Wand des Versuchsgefäßes haftenden Zooglöen um so geringere Größe erreichten, je weiter sie von dem am Boden liegenden Trub entfernt waren. Bei einem anderen Versuche hatten sich auf dem Trub in gleichmäßiger Entfernung sitzend eine größere Zahl von Blasen gebildet, die in der Größe ziemlich übereinstimmten (Fig. 2), während in einem anderen Gefäß mit gleichem Inhalt nur wenige Blasen entstanden, diese dafür beträchtlich größer geworden waren. In den meisten Fällen konnte aber die Ursache der ungleichen Vermehrung der die Zooglöen bildenden Bakterien nicht ergründet werden. Sicher finden bei den jeweils zuerst gebildeten Zooglöen die Bakterien noch günstigere Lebensbedingungen als bei den erst später zur Entwickelung gelangenden, wo die geeignetsten Nahrungsstoffe schon zum Teil vorweggenommen sind und der Obstwein vielleicht auch noch in anderer Beziehung eine für das Bakterienwachstum ungünstigere Beschaffenheit angenommen hat. Wohl in manchem Falle mag die ungleiche Größenentwickelung der Zooglöen hierauf zurückzuführen sein. Möglich, daß diese auch davon abhängt, ob eine Zooglöe nur von einem Kurzstäbchen oder aber von einem ganzen Faden gebildet wurde. Finden sich im Trub eines spontan vergorenen Obstweines Zooglöen oder Blasen von sehr abweichender Größe, so kann dies selbstverständlich auch daher rühren, daß ihre Bildung von Bakterien verschiedener Art oder Rasse ausging.

Die Bakterien der Zooglöen sind durch eine Kittsubstanz miteinander verbunden, so daß diese letzteren eine gallertartige, oft sogar knorpelige Beschaffenheit erhalten. Meist bleibt diese verbindende Zwischensubstanz bestehen, bis die Zooglöe zur Blase geworden. Eine früher eintretende vollständige Verflüssigung, die ja einen Zerfall der Zooglöe zur Folge hätte, konnte wenigstens niemals festgestellt werden; dagegen fand sich nicht selten in älteren Zooglöen, die wegen ungeeigneter Beschaffenheit des Obstweines keine Membran gebildet hatten, der Kern in verflüssigtem Zustand, so daß bei Druck auf das Deckglas der Inhalt der Zooglöe in Form eines Bakterienstromes in die umgebende Flüssigkeit austrat, während eine feste Hülle von noch verbundenen Bakterien zurückblieb.

Ob nach vollständiger Ausbildung der Blasenmembran die Bakterien sich noch vermehren, ließ sich bis jetzt nicht sicher feststellen, es schien aber, als ob unter Umständen auch dann noch ein Wachstum bezw. eine Vermehrung stattfinden könnte. In der Regel findet bald nach Bildung der Haut die Verflüssigung der Kittsubstanz statt, so daß die Bakterien zusammensinken und weniger Platz einnehmen als vorher. Ein solches Zusammensinken der Bakterien auf den Grund der Blase findet wenigstens dann statt, wenn sie Stäbchen- oder Kokkenform besitzen. Wo dagegen verflochtene Fadenbakterien den Inhalt einer Blase bilden, lösen sie sich zwar bei der Verflüssigung der Kittsubstanz von der Wand los, sinken aber naturgemäß nicht zu einem dichten Depot zusammen, sondern verbleiben als lockere, meist kugelförmige Bakterienmasse im Innern der Blase, wie z. B. die Fig. 9 und 51 erkennen lassen.

In einer Blase finden sich stets nur Bakterien von gleicher Beschaffenheit; höchstens ist etwa ausnahmsweise die Gliederung von Stäbchen ungleich weit vorgeschritten; dagegen können in verschiedenen Blasen die Bakterien ungleich gestaltet sein, je nach Art oder Rasse

der Bakterie, nach dem Entwickelungsstadium der Blase und je nach der Beschaffenheit der Nährflüssigkeit: Kokken, Diplokokken, Merimopedientetraden, Kurzstäbchen, gegliederte und ungegliederte Längsstäbe und Bakterienfäden, diese ebenfalls mehr oder weniger gegliedert. In Einzelfällen fanden sich in den Blasen noch zu Tetraden vereinigte Kokken und endlich Bakterien mit Endosporen. Eingehenderes hierüber findet sich in den vorstehenden Abschnitten.

Der Einfluß äußerer Faktoren auf das Wachtum der blasenbildenden Bakterien kann hier kurz behandelt werden, da die betreffenden Versuche in einer Abhandlung über Milchsäurebakterien eingehend besprochen werden sollen [1]). Schon die bloße Beobachtung spontan vergärender Obstweine in verschiedenen warmen Räumen ergab, daß vorzugsweise in den wärmer gehaltenen Versuchsgefäßen die Milchsäurebakterien sich vermehrten und, wenn die Beschaffenheit des Obstweines es gestattete, Zooglöen und Blasen bildeten. In kühlen Räumen vergärten nicht selten die gleichen Moste vollkommen, wenn auch langsam, ohne daß eine merkliche Vermehrung der Milchsäurebakterien stattfand. Wie sehr das Auftreten und die Gärtätigkeit der Milchsäurebakterien von der Wärme beeinflußt wird, erhellt z. B. aus folgendem Versuchsergebnis. Der frisch abgepreßte Saft aus kernteigen Teilersbirnen mit 13,2 Proz. Zucker, 3 Prom. nicht flüchtiger und 0,31 Prom. Essigsäure wurde in mit Gärverschluß versehenen Flaschen in einem Panumschen Thermostaten bei verschiedenen annähernd konstanten Temperaturen der spontanen Gärung überlassen. Der Versuch begann am 30. September 1905. Jeweils, wenn die alkoholische Gärung nahezu aufhörte, was natürlich nicht gleichzeitig geschah, wurde von jeder Abteilung eine Flasche untersucht. Es ergaben sich folgende Resultate in Gramm pro Liter Wein:

bei	33°	25°	20°	17°	13°	11°	8°	6°
Zeit der Untersuchung	25. X.	31. X.	8. XI.	12. XI.	14. XI.	18. XI.	6. XII.	5. I.
Milchsäure	4,03	5,01	4,72	3,88	2,64	2,92	2,24	1,90
Essigsäure	2,86	2,34	2,01	1,29	0,72	0,67	0,66	0,33
Essigsäure, neu gebildet	2,55	2,03	1,70	0,98	0,41	0,36	0,35	0,02
Von der Hefe bis zur Untersuchung gebildete Alkoholmenge	45,0	50,9	55,8	58,0	57,8	62,2	60,3	54,2

Sowohl Essigsäure als Milchsäure sind Produkte der Milchsäurebakterien und können einigermaßen als Maßstab der Bakterienentwickelung gelten. Wollte man die Essigsäurebildung als maßgebend ansehen, so hätten bei 33° die Bakterien am stärksten gewirkt und es wäre dieser oder vielleicht ein noch höherer Wärmegrad der günstigste. Hiermit steht jedoch der Milchsäuregehalt in Widerspruch, der bei 33° niederer war als bei 25°. Da es sich um spontan vergorene Moste handelt, in denen Organismen verschiedener Art zusammenwirkten, ist es aber nicht ausgeschlossen, daß ein Teil der bei hoher Temperatur gebildeten Essigsäure nicht von den Milchsäurebakterien herrührt. Immerhin lassen die mitgeteilten Ergebnisse in Verbindung mit der mikroskopischen Untersuchung der Trube deutlich erkennen, daß innerhalb der bei der Obstweingärung in Betracht kommenden Temperaturen die Milchsäurebakterien um so rascher überhandnehmen und um so energischer wirken, je wärmer der Obstwein ist. Darüber, ob zur Blasenbildung befähigte Milchsäurebakterien sich so

1) Vergl. auch H. Müller-Thurgau, Mannitgärung in Obst- und Traubenweinen. (Landw. Jahrbuch der Schweiz, 1907. p. 230.)

verhalten, konnten aber nur Reinkulturen Aufschluß geben. Es wurde daher ein in sterilisiertem Zustande aufbewahrter Teilersbirnmost in Gärflaschen gefüllt, nochmals sterilisiert und am 8. Dezember 1905 mit einer Reinkultur von Bacterium mannitopoeum (f) infiziert. Die Flaschen kamen dann in die verschiedenen Fächer des Panumschen Thermostaten zu stehen und verblieben hier bei annähernd konstanten Temperaturen. Nur langsam schritt die Entwickelung der Bakterien voran. Eine erste im Monat Januar 1906 begonnene Untersuchung hatte folgendes Ergebnis (in Gramm pro Liter Flüssigkeit):

bei	27°	22°	19°	16°	12°	9°	6°
Zeit der Untersuchung	12. I.	30. I.	2. II.	15. II.	20. II.	16. IV.	20. IV.
Milchsäure	2,92	2,98	2,36	2,13	1,80	0,56	0,44
Essigsäure	1,98	2,31	2,12	1,92	1,56	0,70	0,24
Verschwundener Zucker	10,0	12,8	11,3	8,9	8,3	4,0	2,3

Im Monat Juli, bis zu welchem Termin die Temperatur in den Fächern mehrmals um 1—3° gestiegen war, wurde abermals jedem Fach des Thermostaten eine Flasche zur Untersuchung entnommen und folgendes Ergebnis festgestellt:

bei	34°	27°	22°	19°	16°	12°	9°	6°
Milchsäure	3,36	4,89	3,92	4,30	3,92	2,81	2,24	0,44
Essigsäure	2,64	4,39	3,84	3,60	3,58	2,64	2,16	0,25
Verschwundener Zucker	16,9	32,1	26,4	23,4	25,8	18,0	15,2	6,8

Der zu diesen Versuchen benutzte Obstsaft stammte von teilweise teiggewordenen Teilersbirnen und enthielt 0,4 Prom. Milchsäure und 0,25 Prom. Essigsäure. Es sind daher diese Beträge von obigen Angaben abzuziehen. Ferner soll nicht unerwähnt bleiben, daß, da die Obstsäfte unvergoren waren, die Milchsäurebestimmungen Schwierigkeiten bereiteten und keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit machen können. Immerhin genügen sie vollkommen, um zu beweisen, daß Entwickelung und Tätigkeit der zur Blasenbildung befähigten Bakterie f in hohem Grade von der Temperatur beeinflußt werden. Der verschwundene Zucker ist nur teilweise zur Milch- und Essigsäurebildung verwendet worden; der größere Teil diente zur Erzeugung von Mannit.

Das Bedürfnis der betreffenden Bakterien an freiem Sauerstoff ist jedenfalls gering, das ließen schon die Beobachtungen an den Stichkulturen erkennen. Doch sollte eine besondere Versuchsreihe darüber Auskunft geben, ob sie zu anaërober Lebensweise befähigt sind. Mit einem filtrierten Teilersbirnsaft, von dem festgestellt war, daß die Bakterien darin gut wachsen, wurden vorher sterilisierte Gärflaschen gefüllt. Hierauf sterilisierte man sie samt Inhalt im Dampftopf, fügte nach dem Erkalten je 1 ccm einer Reinzucht der beiden zu Bacterium mannitopoeum gehörenden Bakterien a und f zu und füllte mit sterilisiertem Saft noch bis zum Flaschenhalse auf, um sodann die Flaschen mit sorgfältig sterilisierten, bis auf die Flüssigkeit reichenden Korkstopfen zu verschließen. Schließlich wurden die Stopfen mit Bindfaden verbunden und mit Paraffinüberzug versehen. Da auf diese Weise ein vollständiger Ausschluß von freiem Sauerstoff nicht zu erzielen ist, brachte man einen Teil der Flaschen zudem in einen sauerstofffreien Raum. Sie kamen unter eine mit Tubus versehene Glasglocke zu stehen, deren breiter geschliffener Rand durch eine Wachsschicht mit dem Boden einer flachen Schale verkittet war. In den überstehenden Rand der Schale wurde Quecksilber und darüber etwas Paraffinöl gegossen. Durch den den Tubus verschließenden

Kautschukstopfen führten 2 Glasröhren, die eine auf den Boden, die andere in den oberen Teil der Glocke. Auf den in den Tubus etwas eingesenkten Stopfen wurde ebenfalls eine Schicht Quecksilber gegossen. Unter der Glocke befand sich neben den Gärgefäßen noch eine Glasschale mit alkalischer Pyrogallollösung. Bei Beginn des Versuches wurde nun die Luft in der Glasglocke durch Wasserstoff verdrängt, der aus chemisch reinem Material hergestellt und vor dem Eintritt in die Glocke der Reihe nach durch Lösungen von Bleinitrat, Silbernitrat und Pyrogallol geleitet wurde. Erst nach geraumer Zeit, als der aus der Glocke ausströmende Wasserstoff keinen Sauerstoff mehr enthielt, wurden die beiden Glasröhren zugeschmolzen, so daß nun die Flaschen sich in einem sicher sauerstoffrei bleibenden Raume befanden. Die Temperatur schwankte während der Versuchsdauer zwischen 15 und 17°.

Nach 11 Tagen hatten sich in den gut verschlossenen, jedoch nicht im sauerstoffreien Raume befindlichen Flaschen, wo also ein schwacher Sauerstoffzutritt möglich war, die Bakterien schon gut entwickelt und zwar Bakterie f etwas stärker als Bakterie a, Bakterie f hatte große weiße Flocken gebildet, die teils vom Boden aus nach oben sich erstreckten, teils von der Mostoberfläche nach unten hingen. In den Flaschen mit der Bakterie a zeigte sich ähnliches, nur waren die Flocken etwas kleiner. Noch etwas geringere Entwickelung zeigte die Bakterie f im sauerstoffreien Raume, und Bakterie a schien sich hier noch gar nicht entwickelt zu haben.

28 Tage nach Beginn des Versuches haben sich die Bakterien f in den frei stehenden Flaschen als festes Depot auf dem Boden der Flaschen abgesetzt, die Bakterien a bildeten nun größere Flocken, waren also in der Entwickelung etwas hinter Bakterie f zurückgeblieben. In den Flaschen im sauerstoffreien Raume fanden sich bei Bakterie f große weiße Flocken am Boden, während bei Bakterie a nur eine kaum bemerkbare oder gar keine Entwickelung stattgefunden hatte. Der vollkommenere Sauerstoffabschluß wirkte demnach auf das Wachstum der bei der Aussaat offenbar lebenfähigeren Bakterie f etwas hemmend, bei der schwächeren Bakterie a stark hemmend oder geradezu hindernd, was auch mit den auf Seite 390—394 mitgeteilten Versuchsergebnissen in Einklang steht. Die verschiedenen Obstsäfte wurden nun einer chemischen Untersuchung unterworfen. Wo die Bakterien sich deutlich entwickelt hatten, machte sich beim Oeffnen der Flaschen ein Kohlensäuredruck bemerkbar, die Moste moussierten. Die Untersuchung ergab folgenden Gehalt in Gramm pro Liter:

	Zucker	Gesamtsäure als Aepfelsäure	flüchtige Säure als Essigsäure	flüchtige Säure als Aepfelsäure	nicht flüchtige Säure als Aepfelsäure	Milchsäure	Milchsäure als Aepfelsäure	Aepfelsäure
unvergoren	115,7	4,10	0,32	0,35	3,75	0,60	0,45	3,30
in den freistehenden Flaschen								
mit Bacterium a	101,0	3,92	2,46	2,75	1,17	1,46	1,09	0,08
„ „ f	99,8	3,88	2,51	2,80	1,08	1,44	1,07	0,01
in den im sauerstoffreien Raum stehenden Flaschen								
mit Bacterium a	114,6	3,96	0,47	0,53	3,43	0,48	0,36	3,07
„ „ f	108,6	3,70	2,32	2,60	1,10	1,20	0,89	0,21

Die Untersuchung hat zunächst ergeben, daß die Bakterien a und f, die nach unseren früheren Darlegungen identisch oder doch nahe verwandt sind, zu den fakultativen Anaërobien gehören, wobei eine weitere Feststellung dieser Tatsache nach anderen Methoden noch vorbehalten bleiben muß. Ferner hat sich herausgestellt, daß der Mangel an freiem Sauerstoff ihre Entwickelung etwas zu hemmen vermag. Bei ihren Umsetzungen in Obstsäften und Obstwein bilden die beiden Bakterien, unter noch näher zu bestimmenden Umständen, Kohlensäure. Sie erzeugen stets Essigsäure und Milchsäure. Dagegen verschwindet ein Teil des Zuckers und bei guter Entwickelung der Bakterien die Aepfelsäure vollständig. Die Mengen der nachgewiesenen Gärungsprodukte entsprechen aber den verschwundenen Quantitäten von Zucker und Säure nicht. Im weiteren Verlauf der Untersuchung konnten wir jedoch den Nachweis erbringen, daß die beiden Bakterien in Obstsäften aus Lävulose Mannit bilden, und hierdurch den Fehlbetrag in dem eben beschriebenen Versuche erklären.

Der hemmende Einfluß, den die Hefe auf die Bakterien ausübt, kann wohl auf verschiedene Weise zustande kommen. Während der Hauptgärung wird der im Moste ursprünglich enthaltene freie Sauerstoff bald verdrängt oder aufgebraucht, so daß, wenn das Gefäß mit einem Gärverschluß versehen ist, sich neben der Hefe nur noch anaërobe Organismen vermehren können. Wenn nun, wie sich häufig beobachten läßt, eine ausgiebige Vermehrung der blasenbildenden Bakterien erst nach Abschluß der Hauptgärung stattfindet; so mag dazu der Sauerstoffmangel etwas beitragen; allein da ja die Bakterien fakultativ anaërob sind, wird der Mangel an freiem Sauerstoff in der Flüssigkeit nicht das ausschlaggebende Moment sein, und man wird eher an einen durch die Hefe direkt ausgeübten hemmenden Einfluß denken müssen. Vielleicht daß es sich um eine Nahrungskonkurrenz handelt. Damit würde wenigstens die Beobachtung im Einklang stehen, daß die in Betracht kommenden Bakterien oft nach Abschluß der Gärung, wenn ihnen nun von absterbenden Hefezellen aus geeignete Stickstoffnahrung zur Verfügung steht, ein gesteigertes Wachstum zeigen. Wenn in anderen Mosten schon während der Gärung die Milchsäurebakterien stark überhand nehmen, so widerspricht dies jener Schlußfolgerung durchaus nicht; denn die Beschaffenheit der Obstsäfte und zumal ihr Gehalt an Bakteriennährstoffen kann sehr verschieden sein. Andererseits ist aber dadurch gerade der Beweis geliefert, daß der durch die Gärung herbeigeführte Mangel an freiem Sauerstoff allein unter sonst günstigen Umständen die Entwickelung der Bakterien nicht zu verhindern vermag.

Gegen Alkohol sind unsere Bakterien recht widerstandsfähig; das zeigt schon die Tatsache, daß sie häufig gerade in vergorenen Obstweinen wachsen und zwar auch in verhältnismäßig alkoholreichen mit 6 Gewichtsprozent Alkohol und darüber. Selbst in Traubenweinen mit noch beträchtlich höherem Alkoholgehalt vermögen sie sich zu vermehren.

Der Einfluß der in Obst- und Traubensäften vorkommenden organischen Säuren macht sich in der Weise bemerkbar, daß die blasenbildenden Bakterien um so eher auftreten und um so stärker sich vermehren, je geringer der Säuregehalt ist. Es sind daher gerade die aus säurearmen Früchten gewonnenen Obstweine der nachteiligen Einwirkung dieser Bakterien ganz besonders unterworfen. Auch in Traubensäften ist ihr Auftreten namentlich dann zu bemerken,

wenn dieselben entweder aus überreifen Trauben oder aus solchen säurearmer Sorten hergestellt wurden. Durch künstliche Entsäuerung von Traubensäften durch Calciumkarbonat gelang es uns, die Vermehrung von mannitbildenden Bakterien in den betreffenden Weinen zu ermöglichen, während in den die ursprüngliche Säuremenge enthaltenden die Bakterien sich nicht entwickeln konnten. Aepfelsäure scheint nach unseren Beobachtungen weniger hemmend zu wirken als Weinsäure. Wenn die blasenbildenden Bakterien im Laufe längerer Zeit schließlich auch in spontan vergorenen, aus säurereicheren Birnen hergestellten Obstweinen auftreten, so ist dabei zu berücksichtigen, daß schon durch die Hefe während der Gärung ein Teil der Aepfelsäure zum Verschwinden gebracht wird und daß ferner andere Bakterien den Säuregehalt genügend vermindern können, um den blasenbildenden Bakterien die Weiterentwickelung zu ermöglichen.

Ernährung und Stoffwechselprodukte der blasenbildenden Bakterien. Voraussichtlich finden die Ernährungsvorgänge der Bakterien nicht in gleicher Weise statt, wenn sie frei in der Nährflüssigkeit oder aber eingeschlossen in den Blasen leben. Daß die freilebenden Zucker verbrauchen teils als Nahrungs-, teils als Gärmaterial, lassen schon die auf Seite 406 angeführten Versuche erkennen. Bei ihrer Reinzüchtung konnte bei Zusatz von unvergorenem Obstsaft zur Gelatine der Plattenkulturen öfters ein gutes Wachstum der Kolonieen beobachtet werden, während dieses kümmerlich war oder ganz ausblieb, falls man den Obstsaft in vergorenem Zustande beifügte. Der Zucker ist also, wie auch hieraus hervorgeht, ein geeignetes Nährmaterial für diese Bakterien. Weniger günstig sind die organischen Säuren. Bei einem Versuche wurden Flaschen mit Peptonbouillon (1 Liter Wasser, 10 g Pepton, 2 g Dikaliumphosphat und 5 g Chlornatrium) gefüllt und diesem je 5 Proz. von einer der folgenden Substanzen zugefügt: Mannit, Dextrin, Saccharose, Dextrose, Lävulose (als Sirup), Maltose oder 3 Prom. von Apfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure. In alle Gefäße wurde nach der Sterilisation das Bacterium mannitopoeum f ausgesät. Nach 50-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur zeigte sich nur in den Flaschen mit Lävulose- und Saccharosezusatz eine nennenswerte Vermehrung der Bakterien und zwar auch in denjenigen Proben, die außerdem einen Zusatz von 1 Prom. Apfelsäure erhalten hatten. In der lävulosehaltigen Lösung war das Wachstum besser verlaufen als in der saccharosehaltigen, aber weniger ausgiebig als in Teilersbirnsaft. Die chemische Untersuchung dieser der Bakterienwirkung ausgesetzten zuckerhaltigen Peptonbouillon ergab folgende Zusammensetzung in Gramm pro Liter:

	Zucker	Gesamtsäure als Aepfelsäure	flüchtige Säure als Essigsäure	nicht flüchtige Säure als Aepfelsäure
Peptonbouillon mit Saccharose				
vor Einwirkung der Bakterien	48,0	1,18	0,07	1,10
nach „ „ „	46,9	1,52	0,19	1,31
	—1,1	+0,34	+0,12	+0,21
Peptonbouillon mit Lävulose				
vor Einwirkung der Bakterien	27,1	1,38	0,07	1,30
nach „ „ „	24,4	2,31	0,48	1,77
	—2,7	+0,93	+0,41	+0,47

In der saccharosehaltigen Flüssigkeit ist 1,1 Prom. Zucker verschwunden. Direkt reduzierender Zucker (Invertzucker) ließ sich darin weder vor noch nach Einwirkung der Bakterien nachweisen. Entsprechend der

schwachen Entwickelung der Bakterien ist auch der Zuckerverlust gering. Voraussichtlich wurde auch die Apfeläure angegriffen. Zwar hat der Gehalt an nicht flüchtiger Säure nicht ab-, sondern zugenommen; allein diese Bakterien bilden ja, wie aus den bisherigen Versuchen hervorgeht, stets Milchsäure, die dann bei der Bestimmung in der Menge nichtflüchtigen Säure inbegriffen ist. Von einer besonderen Bestimmung der Milchsäure wurde hier in Anbetracht der voraussichtlich geringen Quantität abgesehen. Auch die Bildung von Essigsäure als Stoffwechselprodukt dieser Bakterien wurde im Bisherigen schon festgestellt. In der lävulosehaltigen Nährlösung entwickelten sich die Bakterien besser, und dementsprechend war auch deren Wirkung weitergehend.

Außer stickstofffreien Substanzen wie Zucker und Aepfelsäure, die sich ersetzen können, nehmen unsere Bakterien ohne Zweifel auch stickstoffhaltige auf. Die Frage, welche darunter besonders zu ihrer Ernährung taugen, wurde nicht näher verfolgt. Immerhin ließen verschiedene Beobachtungen erkennen, daß ihr Gedeihen durch die Art der Stickstoffnahrung stark beeinflußt wird. Die aus ruhenden und toten Hefezellen austretenden Abbauprodukte des Protoplasmas scheinen ihre Entwickelung sehr zu fördern; denn gerade in und auf der absterbenden Hefe von Gärgefäßen konnte eine üppige Vegetation von Bacterium f beobachtet werden. In gleichem Sinne ist das auf Seite 376 erwähnte Vorkommnis zu deuten. Endlich erwies sich ein bei 100 Grad gewonnener und filtrierter Auszug aus Bierhefe mit einem Zusatz von 5 Proz. Lävulose als vorzügliche Nährflüssigkeit für die blasenbildenden Bakterien.

Als Stoffwechselprodukte wurden im Vorstehenden bereits nachgewiesen: Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure, ferner für Bacterium a und f in einer schon veröffentlichten Arbeit[1]) Mannit in beträchtlichen Mengen. Alkohol wurde von diesen Bakterien bei unseren Versuchen gar nicht oder nur in geringen Mengen erzeugt, wie aus nachfolgenden Beispielen hervorgeht, die zudem weitere Belege für obige Ausführung über den Stoffwechsel liefern.

Ein im Herbst 1900 bei 75° in Flaschen sterilisierter und so aufbewahrter Teilersbirnsaft wurde am 11. April 1904 aus den Flaschen entleert und filtriert, dann in bei 120° sterilisierte Gärflaschen zu 500 ccm abgefüllt und in diesen nochmals bei 75° sterilisiert. Nach dem Erkalten infizierte man einen Teil der Flaschen mit dem Bacterium a oder f, während andere vorläufig nicht infiziert wurden. Erst 14 Tage später, nachdem die Bakterien sich entwickelt hatten, wurde einem Teil der Flaschen noch die Obstweinhefe Wädenswil zugefügt. Schließlich setzte man auf alle Flaschen sterilisierte Gärverschlüsse. Die Bakterien entwickelten sich bei der niederen Temperatur (16—18°) langsam. Die Untersuchung der verschiedenen Flüssigkeiten wurde daher erst im Herbst vorgenommen. In denjenigen Gefäßen, die Bacterium a oder f enthielten, fanden sich sowohl am Boden als an der Wand zahlreiche Bakterienblasen, teils stäbchen-, teils fadenförmige Bakterien enthaltend. Ein Teil der Blasen besaß die beschriebenen schlauchartigen Auswüchse. Wo Bakterien nnd Hefe zusammenwirkten, war die Zahl der Bakterienblasen etwas geringer. Die chemische Untersuchung[2]) ergab folgende Gehalte in Gramm pro Liter angegeben:

1) Müller-Thurgau, H. Mannitgärung in Obst- und Traubenweinen. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1907. p. 230.)

2) Sie wurde, wie auch die nachfolgende, vom Assistenten Dr. A. Scherrer ausgeführt.

Wasserbirnsaft	Zucker	Alkohol	Gesamtsäure (als Aepfelsäure)	flüchtige Säure (als Essigsäure)	nicht flüchtige Säure (als Aepfelsäure)	Milchsäure	Aepfelsäure (nicht flüchtige Säure — Milchsäure)
unvergoren	130,4	0,0	4,44	0,05	4,39	0,39	4,10
mit Hefe Wädenswil	0,98	55,1	5,96	0,12	5,83	1,05	5,05
mit Bacterium a	—	0,5	4,92	2,43	2,20	2,81	0,17
„ „ f	120,4	0,5	4,43	1,73	2,50	3,90	0,0
mit Bact. a + Hefe	0,87	53,2	5,57	1,76	3,60	4,84	0,0
„ „ f + „	0,96	55,7	5,47	1,78	3,50	4,41	0,22

Die Zuckerbestimmung wurde nach vollzogener Inversion ausgeführt. Die nicht flüchtige Säure wurde berechnet, indem man von der Gesamtsäure die auf Aepfelsäure umgerechnete flüchtige Säure abzog. Die Bestimmung der Milchsäure fand nach der Methode von Möslinger[1]) statt. Die Menge der mit der flüchtigen Säure überdestillierenden Milchsäure wurde nach dem Vorschlage von Partheil[2]) besonders bestimmt, es ergaben sich nur geringe Beträge, 0,01—0,03 Prom.; sie wurden der übrigen Milchsäure zugezählt. Werden von der nicht flüchtigen Säure die in Aepfelsäure umgerechneten Mengen der Milchsäure abgezogen, so erhält man den Betrag der Nichtmilchsäure, also im wesentlichen der Aepfelsäure. Ueberall, wo Bakterien mitwirkten, ist diese verschwunden. Die keinen Reste, 0,17 und 0,22 Prom. fallen innerhalb die Fehlergrenzen der Bestimmungsmethode der Milchsäure bei Gegenwart größerer Zuckermengen. Der mit Hefe vergorene Obstwein enthielt 1 Prom. „Aepfelsäure“ mehr als der unvergorene Obstsaft; es ist hier die bei der Gärung gebildete Bernsteinsäure inbegriffen. Die beiden Bakterien bildeten ungefähr gleiche Mengen von flüchtiger Säure (Essigsäure); durch die Mitwirkung der Hefe wurde dieser Prozeß nicht wesentlich beeinflußt. Anders dagegen verhielt es sich mit der Milchsäure, von welcher da, wo Hefe und Bakterien zusammen arbeiteten, etwa 1 Prom. mehr gebildet wurde, als wo die Bakterien allein wirkten, gerade etwa um die gleiche Menge, die die Hefe für sich allein erzeugte. Es ist also die Milchsäureproduktion der Bakterien und der Hefe gleich geblieben, ob sie vereinzelt oder zusammenwirkten; im letzteren Falle hat sich etwa die Summe der beiden Einzelproduktionen ergeben.

In ganz derselben Weise und zu gleicher Zeit wurde ein Versuch mit einem 1900er sterilisierten Teilersbirnsaft durchgeführt. In diesem haben sich die Bakterien insofern anders verhalten, als nach der Gärung im Trub sich keine Blasen vorfanden, sondern eine Menge freier Bakterien, und zwar in der Hauptsache in Form langer, in kurze Stäbe gegliederter Fäden; ihre Wirkung war aber doch ähnlich der im vorstehenden Versuche. Die chemische Untersuchung ergab folgendes Resultat, wobei die Zahlen Gramm pro Liter Flüssigkeit bedeuten.

(Siehe Tabelle p. 459.)

Auf diese Einzelresultate soll hier nicht näher eingetreten werden. Zusammengefaßt sind die Ergebnisse dieser Versuche folgende:

1) Durch die beiden Bakterien wird viel Zucker verbraucht; im Teilersbirnsaft, wenn sie allein wirkten, betrug der Verlust 35 Promille,

1) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Jahrg. IV. 1901. p. 1120.

2) Daselbst. 1902. p. 1060.

Teilersbirnsaft	Zucker	Alkohol	Gesamtsäure (als Aepfelsäure)	flüchtige Säure (als Essigsäure)	nicht flüchtige Säure (als Aepfelsäure)	Milchsäure	Aepfelsäure (nicht flüchtige Säure — Milchsäure)
unvergoren	125,4	1,1	4,08	0,36	3,68	0,59	3,10
mit Hefe Wädenswil	0,5	60,8	5,59	0,25	5,30	0,92	4,38
mit Bacterium a	90,4	0,5	7,39	4,03	2,89	1,99	0,91
„ „ f	90,4	1,1	8,92	4,77	3,59	2,76	0,83
mit Bact. a + Hefe	10,2	38,1	11,31	5,68	4,97	4,31	0,66
„ „ f + „	1,1	55,6	5,64	2,71	2,62	2,89	0,00

beim Zusammenwirken der Hefe mit dem hier äußerst kräftig wirkenden Bacterium a ca. 36 Promille, mit dem diesmal ausnahmsweise schwach wirkenden f ca. 10 Promille, nach Abrechnung des von der Hefe zum Wachstum und zur Gärung verwendeten Zuckers.

2) Die Bakterien verwenden die Apfelsäure entweder vollständig (Wasserbirnmost) oder doch zum größten Teil (Teilersbirnmost).

3) Die Bakterien a und f bilden in unvergorenen Obstsäften, wo ihnen Lävulose zur Verfügung steht, Mannit, a z. B. in einem Teilersbirnsaft 20,4, f 25 Prom. Durch eine solche Mannitbildung ist wohl auch in obigen Versuchen der große, nicht im Verhältnis zu den nachgewiesenen Stoffwechselprodukten stehende Zuckerverlust zu erklären.

4) Durch die Bakterien wurden unter den obwaltenden Verhältnissen keine nachweisbaren oder nur sehr geringe Alkoholmengen erzeugt.

5) Die Kohlensäureproduktion war, wenn auch deutlich bemerkbar, doch nicht bedeutend.

6) Dagegen wurden beträchtliche Mengen von flüchtiger Säure (Essigsäure) hervorgebracht und

7) erhebliche Quantitäten von Milchsäure erzeugt. Je mehr flüchtige Säure entsteht, desto ausgiebiger ist auch die Milchsäurebildung; doch nehmen die beiden Vorgänge nicht in gleichem Verhältnisse zu und ab.

8) Im Teilersbirnsaft, wo sich die zahlreichen Bakterien voneinander getrennt frei in der Flüssigkeit befanden, übertrifft durchschnittlich die Menge der gebildeten Essigsäure die der Milchsäure, während in Wasserbirnmost, wo die Bakterien in Kolonieen vereinigt blieben, die später zu Blasen wurden, beträchtlich mehr Milch- als Essigsäure entstand.

Die hier festgestellten, durch Bakterien in Reinkultur hervorgebrachten Veränderungen treten bei der spontanen Gärung der Obstweine häufig ein, und wenn dies in erheblichem Maße geschieht, machen sie sich beim Kosten der Getränke als sogenannter Milchsäurestich deutlich bemerkbar. Zu den im Vorstehenden nachgewiesenen Gärungsprodukten der Bakterien treten, wie bereits erwähnt, noch Ester der Essigsäure und Milchsäure hinzu.

Stets wird die Qualität des Getränkes durch die hier näher studierten Bakterien a und f ungünstig beeinflußt; diese verhalten sich also entschieden abweichend von dem Micrococcus malolacticus, der nach W. Seifert der Haupterreger des Säurerückganges der Weine ist, und als solcher, da er dabei nur wenig flüchtige Säure erzeugt, als günstig wirkender Organismus angesehen wird.

Nach unseren Beobachtungen findet die hauptsächliche Vermehrung der Milchsäurebakterien in Obstweinen oft erst nach Abschluß der Hauptgärung statt, in anderen Fällen aber, zumal bei sehr säurearmen Mosten, geht sie mit derjenigen der Hefezellen parallel und die Bakterien ver-

mögen dann einen ungünstigen Einfluß auf den Verlauf der Gärung auszuüben. Daß Essigsäure schon in geringen Mengen die alkoholische Gärung hemmt, ist bekannt; doch werden voraussichtlich auch noch andere Produkte der Bakterientätigkeit, wie z. B. die Ester, in gleichem Sinne wirken.

Um festzustellen, ob die Milchsäurebakterien wirklich eine Gärungshemmung verursachen können, wenn sie gleichzeitig mit der Hefe sich entwickeln, wurden verschiedene Versuche angestellt. Einige derselben hatten einen negativen Erfolg; trotz gleichzeitiger Aussaat einer Heferasse und von Bacterium f in frischer lebenskräftiger Kultur bemerkte man keine Verzögerung der alkoholischen Gärung. Bis zu deren Abschluß hatten sich, wie die Untersuchung des Trubs und Weines ergab, die Bakterien nur wenig vermehrt, und die Beschaffenheit des Weines ist nicht beeinflußt worden. Erst später fand in den übrig gebliebenen, zu diesen Bestimmungen nicht benutzten Flaschen des Versuches eine langsame, aber andauernde Vermehrung der Bakterien statt. Offenbar hatte die in Gärungstätigkeit befindliche Hefe sie am Wachstum zu verhindern vermocht. Bei einem gerade zur Entscheidung dieser Frage angestellten Versuche wurde von einer größeren Zahl von mit sterilisiertem Teilersbirnsaft gefüllten Flaschen ein Teil mit Bacterium f, ein anderer mit Reinhefe Wädenswil 4 und ein dritter mit diesen beiden Organismen zugleich infiziert. Sowohl die Reinhefe als das Bakterium entwickelten sich einzeln gut, letzteres allerdings langsam. Wo dieses aber mit der Hefe zusammen war, vermochte es nicht zu wachsen, weder während der Gärung, noch auch späterhin, obwohl man mit dem Abschluß des Versuches über ein Jahr zuwartete. Hier wurde also der Spaltpilz durch die Hefe nicht nur zeitweise unterdrückt, sondern vollständig an der Entwickelung verhindert. An der Beschaffenheit des Mostes kann es nicht gelegen haben; er enthielt nur 3,3 Prom. Gesamtsäure, und zudem sind ja die Bakterien für sich allein darin gewachsen. Auf welche Weise dieser auch bei den auf Seite 390—394 beschriebenen Versuchen bemerkte nachteilige Einfluß der Hefe auf die Milchsäurebakterien zustande kommt, ist noch näher festzustellen. Nach unseren Beobachtungen gelingt der Hefe das Zurückdrängen der Milchsäurebakterien um so eher, je ungünstiger das Medium für diese ist, je höher der Säure- und Gerbstoffgehalt, je niederer die Temperatur und ferner in je geringerer Zahl die Bakterien von Anfang an vorhanden sind. Moste aus teigen, also säure- und gerbstoffarmen Teilersbirnen, die bei warmer Witterung verarbeitet wurden, enthalten oft von Anfang an beträchtliche Mengen von Milchsäurebakterien und es schreitet dann deren Weiterentwickelung während der Gärung derart voran, daß der Obstwein schon direkt nach Abschluß der Hauptgärung milchsäurestichig erscheint.

Folgender Versuch gibt noch etwas weiteren Aufschluß über die gegenseitige Beeinflussung von Hefe und Milchsäurebakterien. Im Frühjahr 1905 wurde 1903er Teilersbirnsaft in sterilisierte Gärflaschen abgefüllt, je 300 ccm pro Flasche. Nachdem der Saft bei 75° während einer Stunde erwärmt worden war und sich wieder abgekühlt hatte, wurde die Infektion vorgenommen. Zwei Flaschen wurde am 20. Mai Hefe Wädenswil 4 zugefügt, zwei andere wurden mit Bacterium f und zwei weitere mit beiden Organismen geimpft und zwar je in gleicher Menge wie da, wo sie einzeln verwendet wurden. Da wiederum eine Unterdrückung der Bakterien möglich war, wurden 4 weitere der erwähnten Flaschen für einen zweiten Versuch verwendet, zwei wurden ebenfalls

am 20. Mai mit Bacterium f infiziert und dann erst am 3. Juni, nachdem sich dieses sichtlich vermehrt hatte, die Hefe Wädenswil 4 zugefügt, während die zwei übrigen, um einen exakten Vergleich anstellen zu können, erst an diesem Tage mit Hefe Wädenswil allein geimpft wurden. Alle Flaschen versah man mit sterilisierten Gärverschlüssen. Die Temperatur war nicht konstant; sie schwankte vom 20.—31. Mai zwischen 16 und 18°, im Monat Juni zwischen 18 und 20°. Wie schon bei früheren Versuchen, entwickelten die Moste mit Bacterium f allein nur geringe, bei den täglichen Wägungen nicht zum Ausdruck gelangende Kohlensäuremengen. Die Wägungsresultate bei den übrigen Gärgefäßen sind folgende, wobei die durch den Kohlensäureverlust verursachte Gewichtsabnahme besserer Uebersichtlichkeit wegen nur an jedem 5. Tage angeführt ist. Die gesamte Kohlensäureabgabe betrug pro Liter Obstsaft:

	Most mit Hefe Wädenswil		Most mit Hefe Wädenswil und Bacterium f	
	Flasche 1	Flasche 2	Flasche 1	Flasche 2
Nach 5 Tagen	15,8 g	15,7 g	16,4 g	14,6 g
„ 10 „	32,5 „	31,8 „	32,7 „	30,9 „
„ 15 „	43,2 „	42,4 „	43,0 „	41,6 „
„ 20 „	49,1 „	48,3 „	48,5 „	47,6 „
„ 25 „	52,1 „	50,9 „	51,5 „	50,8 „
„ 30 „	54,0 „	52,9 „	53,3 „	53,1 „
„ 40 „	55,4 „	54,3 „	54,7 „	54,8 „

Diese Zahlen lassen erkennen, daß der Gärverlauf durch die Anwesenheit der Bakterien nicht beeinflußt wurde; diese hatten sich während der Gärung, wie die Untersuchung des Trubes ergab, nur unbedeutend vermehrt. Die chemische Untersuchung der Säfte ergab auch ein diesem Umstande entsprechendes Resultat. Die Zahlen bedeuten Gramm in Liter Flüssigkeit.

	Alkohol	Zucker	Gesamtsäure (als Aepfelsäure)	flüchtige Säure (als Essigsäure)	nicht flüchtige Säure (als Aepfelsäure)	Milchsäure	Aepfelsäure
Most unvergoren	0,0	118,2	4,03	0,25	3,75	0,60	3,30
„ mit Bacterium f	0,5	90,0	7,01	4,19	2,34	2,42	0,53
„ mit Hefe Wädenswil	65,2	1,0	5,43	0,24	5,16	0,94	4,46
„ mit Hefe u. Bacterium gleichzeitig infiziert	64,6	1,2	5,75	0,28	5,44	0,84	4,82

Der Zucker beim unvergorenen und dem nur mit Bakterien infizierten Most wurde nach erfolgter Inversion bestimmt. Bezüglich der Bestimmung der Milchsäure und der Berechnung der nicht flüchtigen und der Aepfelsäure gilt die Bemerkung unter der Tabelle auf Seite 409.

Auch diesmal haben die Bakterien keinen oder nur Spuren von Alkohol gebildet, wie auch die Kohlensäureentwickelnng eine geringe war. Auffällig erscheint der große Zuckerverlust von 28 Prom.; doch ist er zu erklären durch die energische Mannitbildung, deren die Bakterie f ja fähig ist. Die Bakterie bildete wiederum viel flüchtige Säure und eine ziemliche Menge Milchsäure, die Aepfelsäure wurde fast vollständig zersetzt. Der mit Hefe vergorene Wein zeigte die gleiche Zusammensetzung, ob Bakterien anwesend waren oder nicht; ein Einfluß derselben machte sich also weder auf den Gärverlauf, noch auf die Zusammensetzung des Gärproduktes bemerkbar.

Ganz anders war nun das Ergebnis beim zweiten Teil dieses Versuches, bei welchem man den Bakterien erst 14 Tage Zeit zur Vermehrung ließ und erst dann die Hefe Wädenswil 4 zusetzte. Folgende Zahlen, den Kohlensäureverlust pro Liter angebend, zeigen den Gärverlauf:

	Most mit Hefe Wädenswil		Most mit Bakterie f und Hefe Wädenswil	
	Flasche 1	Flasche 2	Flasche 1	Flasche 2
Nach 5 Tagen	19,5 g	18,7 g	14,0 g	12,4 g
„ 10 „	33,1 „	33,1 „	25,3 „	22,7 „
„ 15 „	42,3 „	43,4 „	33,6 „	29,0 „
„ 20 „	48,3 „	49,8 „	37,8 „	31,1 „
„ 25 „	51,5 „	52,5 „	38,7 „	31,5 „
„ 30 „	53,7 „	54,0 „	39,5 „	31,8 „
„ 37 „	54,8 „	54,7 „	39,5 „	31,8 „

Die zwei Kolonnen rechts lassen den Einfluß der Bakterientätigkeit auf den Gärverlauf deutlich wahrnehmen und zwar in der später zur chemischen Untersuchung ausgewählten Flasche 2 noch schärfer als in Flasche 1. Da die Hemmung schon in den ersten Tagen sich zeigte, ist sie wohl nicht allein auf den Verlust des von den Bakterien verwendeten Zuckers zurückzuführen, sondern auch auf die Einwirkung von Stoffwechselprodukten. Die am Schluß der Gärung festgestellte gesamte Kohlensäuremenge war bei Mitwirkung der Bakterien bedeutend geringer, als wo die Hefe allein gärte. Es wurde eben ein Teil des Zuckers von den Bakterien verwendet, zum größten Teil wohl zur Mannitbildung, und so blieb für die alkoholische Gärung weniger übrig. Mit diesen Befunden stimmen dann auch die Ergebnisse der chemischen Untersuchung überein, für welche die Bemerkungen zu der auf Seite 409 stehenden Tabelle ebenfalls gelten. Die Zahlen bedeuten auch hier Gramm pro Liter.

	Alkohol	Zucker	Gesamtsäure (als Aepfelsäure	flüchtige Säure (als Essigsäure)	nicht flüchtige Säure (als Aepfelsäure)	Milchsäure	Aepfelsäure
Most unvergoren	0,0	118,2	4,03	0,25	3,75	0,60	3,30
„ mit Bacterium f	0,5	90,0	7,01	4,19	2,34	2,42	0,53
„ mit Hefe Wädenswil	62,1	1,2	5,86	0,25	5,59	0,98	4,86
„ mit Bacterium u. erst später mit Hefe infiziert	39,3	14,9	9,65	5,30	3,73	4,64	0,0

Den durch die Bakterie f verursachten Zuckerverlust von 28 Prom. haben wir schon erwähnt und als hauptsächlich durch die Mannitbildung zustandegekommen erklärt. Auch in demjenigen Moste, der zuerst mit dem Bacterium und hernach mit Hefe infiziert worden war, trat ein mindestens ebenso großer Zuckerverlust ein, und es konnte schon aus diesem Grunde nur eine geringere Menge Alkohol erzeugt werden als durch die Hefe allein. Der Unterschied 62,1—39,3 = 22,8 Prom. Alkohol ist jedoch zum Teil darauf zurückzuführen, daß in diesem Moste die Gärung zum Stillstand kam, bevor aller Zucker vergoren war. Von der als unvergorener Zucker aufgeführten Substanz werden ähnlich wie da, wo die Hefe allein wirkte, ca. 1,2 Promille unvergärbare Substanz, die übrigen 13,7 Prom. wirklich vergärungsfähiger Zucker sein, der etwa 7 Prom. Alkohol hätte liefern können. Wird diese Menge von der festgestellten Minderausbeute von 22,8 Prom. abgezogen, so verbleibt noch

ein Fehlbetrag von 15,8 Prom. Alkohol, was einem Verlust von ca. 30 Prom. Zucker entspricht. Daß hier zudem eine so erhebliche Menge Zucker unvergoren blieb, ist ohne Zweifel dem Einfluß des Spaltpilzes zuzuschreiben, den von ihm erzeugten Säuren, Estern und vielleicht noch anderen Kampfstoffen.

Während die Reinhefe allein keine Vermehrung der flüchtigen Säure und nur eine geringe Zunahme der Milchsäure verursachte, hat das Bacterium f sowohl allein als auch mit der Hefe zusammen eine erhebliche Menge von Essigsäure erzeugt, im ersteren Falle 4, im letzteren 5 Prom. Die Milchsäureproduktion war in Uebereinstimmung mit den auf Seite 409 angeführten Versuchsresultaten ausgiebiger, wo die Bakterien mit der Hefe zusammen als da, wo sie allein wirkten, und zwar ist der Unterschied hier zu groß, als daß er durch die Milchsäureproduktion der Hefe erklärt werden könnte. Es wurde die Essigsäure- und Milchsäureproduktion der Bakterien durch die Anwesenheit der Hefe gefördert. Als am 3. Juni die Hefe zugesetzt wurde, hatte sich das am 20. Mai in den sterilisierten Most gebrachte Bacterium f zwar sichtlich vermehrt; allein die hauptsächlichste Vermehrung und Wirksamkeit fand doch erst nachher statt, also in Anwesenheit der Hefe.

Aus den letzten 3 Kolonnen der vorstehenden Tabelle ist abermals zu ersehen, daß da, wo die Reinhefe allein wirkte, die nichtflüchtige Säure beträchtlich zugenommen hat, und diese Zunahme ist nicht etwa dem Zuwachs an Milchsäure zuzuschreiben, sondern es muß zu der bestehen gebliebenen Aepfelsäure hinzu noch ca. 1,5 Prom. anderer nichtflüchtiger Säuren (Bernsteinsäure etc.) gebildet worden sein. Die Bakterien dagegen haben die Aepfelsäure vollständig aufgezehrt.

Aus dem Versuche darf außerdem geschlossen werden, daß die blasenbildenden Milchsäurebakterien f in einem Obstsafte, der ihrer Entwickelung günstig ist, auch während der Gärung zur Vermehrung und Wirkung gelangen, vorausgesetzt, daß sie bei Beginn in reichlicher Zahl vorhanden sind.

In diesem Abschnitte fand der Stoffwechsel einiger blasenbildenden Bakterien (a und f) einläßliche Behandlung, doch handelte es sich dabei um die freilebenden Bakterien. In welcher Weise der Stoffumsatz dieser Bakterien erfolgt, wenn sie im Innern einer Zooglöe oder gar innerhalb einer Blase, also von der Nährflüssigkeit durch eine Membran geschieden sind, wird sich schwierig feststellen lassen. Vielleicht gelingt es, durch mikrochemische Untersuchungen die eine oder andere Frage noch näher zu beantworten. Daß die in den Blasen enthaltene Flüssigkeit eine andere Beschaffenheit besitzt als der umgebende Obstwein, wurde schon auf Seite 385 dargetan und daselbst auch auf den Stoffwechsel der Bakterien innerhalb der Blasen hingewiesen.

Zum Schlusse möge noch eine Zusammenstellung und kurze Charakteristik oder Diagnose der blasenbildenden Bakterien folgen:

Bacterium mannitopœum n. spec. (hierzu gehören die im vorigen erwähnten und zum Teil näher beschriebenen Bakterien a, f, g und h). Cylindrische längere oder kürzere Stäbe, Länge der kürzesten Glieder 1,5, Dicke 0,8—1,1. Ungegliederte Stäbe 5—50 Länge und darüber je nach Beschaffenheit des Weines (Fig. 80, 81 und 82). Lange, teils gegliederte, teils ungegliederte Fäden bilden in Obstwein gelegentlich schneeweiße Flocken von 1—3 cm und mehr Durchmesser.

Das Bakterium bildet keine Endosporen.

Die Stäbchen besitzen keine Geißeln, sind unbeweglich.

Sie neigen zur Bildung von einfachen oder zusammengesetzten Zooglöen. Aus diesen können Blasen mit glatter, nach innen und außen scharf abgegrenzter Membran entstehen.

In Mostgelatine entstehen aus Kurzstäbchen linsenförmige bis kugelrunde, aus gegliederten Stäben wurstförmig allmählich sich abrundende, im auffallenden Licht schneeweiße, im durchfallenden gelbbräunlich gefärbte Kolonieen von glatter Oberfläche. In Stich- und Strichkulturen zeigen die Bakterien ziemlich dieselbe Entwickelung, in letzteren wachsen sie der ganzen Länge des Stiches nach gleich gut.

Mostgelatine wird von den Kolonieen weder verflüssigt, noch sonst sichtbar verändert.

Die Bakterien lassen sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben leicht färben und nehmen auch die Gramsche Färbung an.

Sie sind fakultativ anaërob, wachsen bei Zutritt von freiem Sauerstoff etwas besser als bei Luftabschluß. Das Temperaturminium für ihr Wachstum findet sich bei 8—10, das Optimum bei 25—30.

Alkohol von 6 und mehr Gewichtsprozent wird von den Bakterien ertragen, gegen Säure sind sie empfindlich. Moste und Weine von 5 Prom. Säure und darunter werden am ehesten befallen.

Die Bakterien zersetzen Lävulose und Saccharose, nicht dagegen Maltose, Dextrin und Mannit; ferner wird Aepfelsäure zerlegt.

Sie erzeugen in Obstmosten keinen oder nur wenig Alkohol, etwas Kohlensäure, dagegen viel Essigsäure, Milchsäure und Mannit.

Sie finden sich häufig in Obst- und Traubenweinen, besonders in säurearmen, und ihre Vermehrung wird begünstigt durch hohe Temperatur, sowie durch langes Lagern der Weine auf der Hefe (Trub).

Bacterium gracile n. spec. ist mit Bacterium mannitopœum verwandt, jedoch in allen Kulturen, in flüssigen und festen Nährböden viel zarter gebaut. Die Kurzstäbchen sind 1—1,2 lang und 0,4—0,6 dick. Die Gliederung tritt rasch ein, so daß längere ungeteilte Stäbe oder Fäden in der Regel nicht zu finden sind. Der Zerfall der enggegliederten Fäden (vgl. Fig. 83 auf Tafel IV) in Kurzstäbchen hängt wie bei Bact. mannitopœum wesentlich von der Beschaffenheit des Obstweines ab, findet aber regelmäßig früher statt als bei diesem, so daß die Bakterie in Obstweinen meist nur in Form von Kurzstäbchen oder kurzen, durchweg gegliederten, häufig stark gebogenen, geknickten Fäden auftritt. Flockenbildung wurde bei diesem Bakterium bisher nicht beobachtet. Die Kurzstäbchen sind unbeweglich, Sporen wurden nicht gefunden. In Obstweinen und Obstmosten gewisser Birnsorten bildet das Bacterium gracile Zooglöen und Blasen. In den letzteren finden sich je nach Beschaffenheit des Obstweines enggegliederte Fäden oder kokkenartige Kurzstäbchen. Beschaffenheit und Verhalten der Kolonieen in Mostgelatine ähnlich wie bei Bact. mannitopœum; ebenso die Färbung mit Anilinfarben (Gramsche Färbung nicht geprüft). Bact. gracile in Reinkultur erzeugt Milchsäurestich der Obstweine, bildet also Milchsäure und Essigsäure. Weiter wurden die chemischen Umsetzungen noch nicht untersucht. Vorkommen gleich wie bei Bact. mannitopœum.

Micrococcus cystiopœus n. sp. (Im Vorstehenden zuerst als c und i bezeichnet.) Tritt in Obstwein, Gelatinekolonieen und in den Blasen in Form von Kokken, Diplokokken und Tetraden (Merismopedien) auf (Fig. 84 und 85). Es wurde weder Bewegung der Bakterien noch

Sporenbildung bemerkt. Die Kolonieen in Mostgelatine sind rundlich, im auffallenden Licht weiß, im durchfallenden gelblich. Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt. Der M. cystiopœus bildet in Obstmosten und Obstweinen Zooglöen und Blasen. Die Bakterien lassen sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht färben. Verhalten bezüglich Anaërobie wurde nicht geprüft. Das Wachstum in Obstwein zur Zeit der Hauptgärung in mit Gärverschluß versehenen Gefäßen weist darauf hin, daß sie fakultativ anaërob sind. Die durch sie verursachten chemischen Umsetzungen in Obstweinen und anderen Nährsubstraten wurden noch nicht festgestellt. Die gemachten Beobachtungen lassen vermuten, daß sie ebenfalls Milchsäure und Essigsäure erzeugen. Vorkommen im Trub von Obstweinen.

Micrococcus spec. Dieser Organismus wurde in Blasen in einem aus Sürlerbirnen und Ottenbacher Schellerbirnen hergestellten Obstwein gefunden, jedoch nicht reingezüchtet und näher untersucht. Daher wird vorläufig auf die Speciesbezeichnung verzichtet. Er unterscheidet sich von M. cystiopœus dadurch, daß in den Blasen sich Tetraden anderer Beschaffenheit befinden als bei diesem. In kleinen, in den Blasen regelmäßig angeordneten Schleimkügelchen fanden sich je 4 quadratisch angeordnete Kokken (Fig. 23, 24, 52, 53 und 86). Beim Freiliegen in Obstsaft entwickelten sich diese Tetraden in kurzer Zeit zu kleinen Zooglöen und Blasen.

Bezüglich einiger anderer Spaltpilze, die in Zooglöen und Blasen gefunden wurden, sich bei näherer Untersuchung aber möglicherweise als zu vorstehenden gehörig erweisen, sei auf Seite 397—399 dieser Abhandlung verwiesen.

Wädenswil, 20. November 1907.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Große Bakterienblasen aus einem jahrelang auf der Hefe gebliebenen Reinholzbirnwein[1]), auf dem Trub liegend. Rechts zwei kleinere Blasen, in der Flüssigkeit schwebend gezeichnet. Natürl. Größe.

Fig. 2. Eine Gruppe von runden Bakterienblasen, die ziemlich dicht stehend den Trub eines Reinholzbirnweines bedeckten. Blasen mehr als zur Hälfte mit Bakterien gefüllt. Natürl. Größe.

Fig. 3. Einzelnstehende Blasen mit nabelförmiger Ansatzstelle aus einem ähnlich beschaffenen Reinholzbirnwein. Natürl. Größe.

Fig. 4. Kleine junge Blase aus Fischbächlerwein vom Herbst 1900, gezeichnet Januar 1901. Vergr. ca. 1:500.

Fig. 5. Ganz kleine Blasen aus dem gleichen Wein. Vergr. ca. 1:500.

Fig. 6. Gruppe von jüngeren Blasen aus Marxenbirnwein vom Herbst 1903, entstanden im Januar, gezeichnet 3. Februar 1904. (1:400).

Fig. 7. Zusammenhängende Gruppe von Bakterienblasen aus einem im Faß vergorenen und im Frühjahr 1903 vollständig klar auf Flaschen abgezogenen 1902er Teilersbirnwein. Bis Frühjahr 1904 hatten sich darin Milchsäurebakterien vermehrt und in deren Fadengeflecht fanden sich zahlreiche vereinzelte und zu Gruppen vereinigte Bakterienblasen. (1:40.)

Fig. 8. Eine Gruppe zusammenhängender Blasen aus dem gleichen Obstwein, enthaltend verschieden geformte Bakterien. (1:160.)

Fig. 9. Eine von einer Milchsäurebakterie, Bacterium mannitopœum (f) in Reinkultur in Marxenbirnsaft gebildete Blase. (1:100.)

Fig. 10. Eine geöffnete kleinere Blase aus spontan vergorenem Marxenbirnwein mit ähnlichem Inhalt wie vorige. (1:200.)

Fig. 11. Blase aus einem Marxenbirnwein, Bakterien zusammengesunken. (1:150.)

---

1) Alle in dieser Tafelerklärung genannten Obstweine sind, wenn nichts anderes bemerkt ist, spontan vergoren.

Fig. 12. Blase aus einem 1900er Schellerbirnwein, Bakterien zusammengesunken, gezeichnet Januar 1901. (1:35.)

Fig. 13. Größtenteils entleerte Blase mit Auswuchs aus einem Schellerbirnwein. Stäbchenförmige, zum Teil geknickte Fäden bildende Bakterien strömen aus einer engen Oeffnung der Blase. In der kleinen Blase haften noch Bakterien an der Wand. (1:200.)

Fig. 14. Blase aus einem 1902er Theilersbirnwein, gefüllt mit Stäbchenbakterien. Die Verbindungsbrücke zwischen den beiden Auswüchsen läßt schließen, daß schon die Zooglöe diese Auswüchse hatte (ca. 1:300).

Fig. 15. Doppelblase aus einem Schellerbirnwein mit fadenförmigen, klungelartig aufgewundenen Bakterien. (1:160.)

Fig. 16. Aehnlich beschaffene Doppelblase aus dem gleichen Obstwein. (1:160.)

Fig. 17. Blase, gebildet von Bacterium a in einem sterilisierten Wasserbirnsaft, an der Wand der Gärflasche sitzend, mit einem kurzen und einem langen Schlauch. Der Schlauch ist stellenweise von einem feinen Gerinnsel umgeben. (1:10.)

Fig. 18. Blase von Bacterium mannitopœum (a), in einem sterilen Schellerbirnsaft gebildet, mit mehreren langen, hin- und hergebogenen Schläuchen. (1:10.)

Fig. 19. Blase von Bacterium mannitopœum (a), Reinkultur in einem sterilen Marxenbirnsaft mit einem vollständig durchsichtigen, mit glatter Haut versehenen Schlauch. (1:200.)

Fig. 20. Zooglöe mit Anfangsstadium einer Membran und einem schraubenförmig gebildeten Schlauch. Nahe dem geschlossenen Schlauchende findet sich eine beschränkte Zahl von Bakterien. (1:500.)

Fig. 21. Zusammengesetzte, mit Auswüchsen und borstenförmigen Schläuchen versehene Blase, entstanden in einer Reinkultur von Bacterium mannitopœum (f) in Wasserbirnsaft. (1:200.)

Fig. 22. Blase, gebildet von Bacterium mannitopœum (f) in Reinkultur in einem Marxenbirnsaft. An dem Schlauch a, der während der Beobachtung heranwuchs, wurden die auf p. 384 beschriebenen Messungen ausgeführt (1:50); b der optische Längsschnitt durch den Schlauch mit dem umgebenden Gerinnsel c (1:500), bei a der Längsschnitt durch die Spitze bei gleicher Vergrößerung.

Fig. 23. Oeffnung einer geplatzten Blase aus einem Obstwein von Sürlerbirnen und Ottenbacher Schellerbirne. Aus der Blase traten zu vielen Hunderten die in Schleim eingebetteten Tetraden des Micrococcus spec. hervor. (1:700.)

Fig. 24. Kleine Blase aus dem gleichen Obstwein, einige Zeit auf dem Objektträger liegen geblieben, die Tetraden sind zu kleinen Zooglöen geworden und haben sich zum Teil mit einer Haut umgeben. (1:700.)

Fig. 25. Zooglöenbildung in einem Gemisch von Teilersbirn- und Schellerbirnwein im Faß. a, b und c Anfangsstadien, d der knäuelartig zusammengezogene Bakterienfaden, durch Schleim zusammengehalten. e von drei zusammenhängenden, wahrscheinlich aus einem Faden entstandenen Zooglöen haben zwei mit der Hautbildung begonnen.

Fig. 26. Anfang der Zooglöenbildung in Fischbächlerbirnwein. a Bakterienfaden, b und c Knicken und Zusammenziehen eines solchen, d Knäuelbildung.

Fig. 27. Anfang der Zooglöenbildung in Reinholzbirnwein 1902. a Anfängliches Zusammenkrümmen eines gegliederten Bakterienfadens, b vorgerückteres Stadium, Knäuelbildung.

Fig. 28. Zooglöenbildung in einem Obstwein aus Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnen. a Anfangsstadium, b Kette von kleinen Zooglöen und einer Blase (ca. 1:500).

Fig. 29. Zooglöenbildung in einer Reinkultur von Bacterium mannitopœum (f). Jedes der gezeichneten Stadien aus einem ursprünglich einfachen Faden im hängenden Tröpfchen entstanden. a und b Anfangsstadien, c weiter vorgerücktes Stadium, d nur eine einzelne von mehreren aus einem Faden entstandenen Zooglöen. Hier sind die Bakterien in der Zooglöe schon etwas miteinander verschmolzen. (1:500.)

Fig. 30. Zooglöenbildung in einem Wasserbirnwein. a die ursprünglichen Bakterienfäden, b, c und d Beginn der Knäuelbildung. Weitere Stadien und eine Zooglöe. Da die Zooglöen in diesem Weine keine Haut bildeten, wurden sie in sterilisierten Fischbächlerwein gebracht, wo sie bald zu Blasen wurden (f).

Fig. 31. Zooglöenbildung in Sürlerbirnwein, wobei die Bakterien weniger zerfallen. a, b und c aufeinanderfolgende Stadien, d eine zusammengesetzte Zooglöe, die voraussichtlich zu einer Doppelblase ähnlich Fig. 47 auf Taf. II wird.

Fig. 32. Zooglöenbildung in einer Reinkultur von Bacterium mannitopœum (f) in Wasserbirnsaft. a und b Anfänge der Knäuelbildung, c dreiteilige Zooglöe, die Einzelbakterien noch nicht miteinander verschmolzen. (1:500.)

Fig. 33. Dieselbe Bakterie in Reinholzbirnsaft. Die Vorgänge bei der Zooglöenbildung ähnlich wie Fig. 32, Bakterien aber weniger geteilt.

Fig. 34. Blase mit brockigen, noch zusammenhängenden Bakterien. (1:500.)

Fig. 35. Große Zooglöe und einige damit zusammenhängende kleinere aus einem in Gärung begriffenen Schellerbirnwein. (1:20.)

Tafel II[1]).

Fig. 36. Kleine Blase aus Reinholzbirnwein, die regelmäßige Anordnung der Bakterien zeigend. (1:300.)

Fig. 37. Kleine Blase aus Fischbächlerbirnwein, Andeutung des Nabels, regelmäßige Anordnung der Bakterien. (1:400.)

Fig. 38. Etwas größere Blase aus Reinholzbirnwein, die regelmäßige Anordnung der Bakterien zeigend, auf der leeren Haut einer großen Blase sitzend. (1:300.)

Fig. 39. Blase aus Fischbächlerwein; die Bakterien lösen sich voneinander los. (1:300.)

Fig. 40. Große und damit zusammenhängende kleinere Blasen aus Reinholzbirnwein. Von der Seite photographiert, um die zusammengesunkene Bakterienmasse zu zeigen. (1:30.)

Fig. 41. Zwei Blasen aus Fischbächlermost, eine mit Nabel. Unter den beiden eine zusammengesunkene entleerte Blase. (1:300.)

Fig. 42. Eine größere und eine kleinere Blase aus Teilersbirnwein. Letztere mit beträchtlich kleineren kokkenförmigen Bakterien. (1:340.)

Fig. 43. Eiförmige Blase aus Schellerbirnwein mit fadenförmigen Bakterien. (1:330.)

Fig. 44. Zwei mit der schmalen Seite zusammenstehende Blasen aus Schellerbirnwein mit fadenförmigen Bakterien. (1:330.)

Fig. 45. Drei durch Stränge miteinander verbundene Blasen aus Schellerbirnwein; im einen Strang die von einer in die andere Blase sich erstreckenden Fadenbakterien zu erkennen. Neben den Blasen Bakterien und Hefen. (1:330.)

Fig. 46. Eine rundliche Blase aus dem gleichen Birnwein, die eigenartige Beschaffenheit und Anordnung der Bakterien erkennen lassend. (1:330.)

Fig. 47. Zwei in Verbindung stehende Blasen aus demselben Wein. Die Bakterien erstrecken sich durch den Verbindungsgang. Neben den Blasen Hefezellen. (1:330.)

Fig. 48. Blase aus demselben Birnwein; die beiden Fortsätze sind durch einen Strang verbunden. (1:330.)

Fig. 49. Aehnliche Blase, geöffnet, die verfilzten Bakterien treten nicht aus. (1:330.)

Fig. 50. Blase aus einem anderen Schellerbirnwein. Die kokkenförmigen Bakterien, zwischen denen die Kittsubstanz aufgelöst wird, sinken zusammen. (1:500.)

Fig. 51. Blase aus Sürlerbirn- und Ottenbacher Schellerbirnwein. Bakterien zusammengesunken. (1:300.)

Fig. 52. Blase aus demselben Obstwein mit regelmäßig angeordneten Kokkentetraden. Außerhalb der Blase einige Fadenbakterien, mit ihr nicht in Verbindung. (1:500.)

Fig. 53. Eine kleinere ebensolche Blase geöffnet, um die eigentümlichen, von Schleim umgebenen Tetraden deutlicher zu zeigen. (1:500.)

Fig. 54. Geöffnete Blase aus Fischbächlerwein. Die noch durch die Zwischensubstanz verbundenen Bakterien treten nicht aus. (1:330.)

Fig. 55. Doppelblase aus Teilersbirnwein. Ausströmen der stäbchenförmigen Bakterien in die umgebende Flüssigkeit. (1:350.)

Fig. 56. Gruppe von Milchsäurebakterien mit großen und kleinen Blasen aus dem Trub eines spontan vergorenen Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnweins. Bakterien von der Blasenwand gelöst. (1:250.)

Fig. 57. Blase aus Schellerbirnwein mit deutlich ausgebildetem Nabel einer größeren Blase aufsitzend. Der aus Fadenbakterien bestehende Inhalt eine gewisse, zum Nabel in Beziehung stehende Anordnung zeigend. (1:330.)

Fig. 58. Zwei zusammenhängende, alte entleerte Blasen aus Reinholzbirnwein mit zahlreichen daran sitzenden kleineren, jedenfalls jüngeren Blasen. (1:30.)

Fig. 59. Ein kleines Stück der Haut einer Blase von Fig. 58 mit daran sitzender junger Doppelblase, bei der die Haut erst in Bildung begriffen ist. (1:600.)

Fig. 60. Eine kleine bei a in Fig. 58 auf der Haut der großen entleerten sitzende Blase nebst der in dieser Figur gerade noch bemerkbaren Gruppe noch kleinerer Blasen und Zooglöen, stärker vergrößert. (1:360.)

Fig. 61. Blase mit daran festhaftenden Zooglöen aus Teilersbirnwein. (1:360.)

Fig. 62. Birnförmige Blasen aus einem in Flaschen gelagerten Spätbirnwein, zu vielen Hunderten in jeder Flasche. (1:15.)

---

1) Die mikrophotographischen Bilder für die Tafeln II, III und IV wurden von Dr. A. Osterwalder aufgenommen.

Tafel III.

Fig. 63. Milchsäurebakterien aus einer großen Flocke in einem Fischbächlerbirnwein. Ein Teil der Bakterien (oben) ist noch fadenförmig, lang gegliedert, ein anderer Teil (unten) im Beginn der Zooglöenbildung, kurz gegliedert, zusammengeknäult. (1:150.)

Fig. 64. Ein einzelner Bakterienfaden aus einem Reinholzbirnmost, zur Zooglöenbildung schreitend. (1:600.)

Fig. 65. Ein solcher Faden aus Teilersbirnwein, die knotigen Anschwellungen zeigend wie z. B. Fig. 27a. (1:35.)

Fig. 66. Ein ähnlicher Faden aus Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnwein, in der Zooglöenbildung schon weiter vorgeschritten, vergl. Fig. 28a. (1:500.)

Fig. 67. Ein solcher Faden aus dem gleichen Birnwein, an dem schon die Zooglöen zu erkennen sind. (1:500.)

Fig. 68. Aus dem gleichen Birnwein, neben einem Anfangsstadium, eine Gruppe schon weiter ausgebildeter Zooglöen. (1:500.)

Fig. 69. In der Knäuelbildung begriffener Faden und eine schon ausgebildete, durch Druck verletzte Zooglöe, beide auf der Haut einer größeren Blase aus Reinholzbirnwein sitzend. (1:600.)

Fig. 70. Zusammengesetzte, aus brockigen, d. h. verhältnismäßig dicken, unregelmäßig geformten Bakterien bestehende Zooglöe aus Reinholzbirnsaft, vergl. auch Fig. 34. (1:900.)

Fig. 71. Gruppe von sechs miteinander verbundenen, aus einem Bakterienfaden entstandenen Zooglöen aus Fischbächlerbirnwein. (1:600.)

Fig. 72. Gruppe von größeren und kleineren Zooglöen aus einem Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnwein. (1:600.)

Fig. 73. Ebensolche Gruppe aus einem Fischbächlerbirnwein, einige Zooglöen schon mit deutlicher Haut versehen, also zu Blasen verwandelt. (1:330.)

Fig. 74. Zooglöengruppe wie 72. (1:600.)

Fig. 75. Zooglöenreihe aus dem gleichen Obstwein. Die größere der mittleren Zooglöen läßt die in Fig. 30 dargestellte Beschaffenheit erkennen. (1:500.)

Fig. 76. Klumpenförmige Zooglöengruppe. In dem betr. Schellerbirnwein fanden sich zahlreiche solcher Klumpen, einzelne aus mehreren Hunderten zusammenhängender Zooglöen bestehend. (1:300.)

Fig. 77. Zooglöengruppe aus Fischbächlerwein nebst einer Gruppe von Hefezellen. Die meisten Zooglöen sind schon in Blasen umgewandelt. (1:350.)

Fig. 78. Große Zooglöe aus Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnwein, an ihrem oberen Rande eine ganz kleine. (1:350.)

Fig. 79. Randzone eines großen Zooglöenklumpens aus einem Spätbirnwein. Einzelne Zooglöen haben sich durch Membranbildung in Blasen verwandelt. (1:600.)

Tafel IV.

Fig. 80. Bakterien aus einer in vergorenem Wasserbirnwein gewachsenen großen Flocke, sogenannte Milchsäurebakterien. Ausgangsmaterial für die Reinzüchtung der blasenbildenden Bakterie f (Bact. mannitopœum n. sp.). (1:830.)

Fig. 81. Das reingezüchtete Bacterium mannitopœum (f) in unvergorenem Wasserbirnmost kultiviert. (1:830.)

Fig. 82. Zur gleichen Species gehörige Bakterie a aus einer Gelatinekolonie. Die Bakterie wurde aus Teilersbirnwein gewonnen und reingezüchtet. (1:940.)

Fig. 83. Bacterium gracile n. sp. (d) aus einer Blase in einer Reinkultur in unvergorenem Schellerbirnmost. (1:830.)

Fig. 84. Tetraden von Micrococcus cystiopœus n. sp. (c) aus einer Reinkultur in vergorenem Wasserbirnmost. Die Bakterie stammt ursprünglich aus einer Blase in Reinholzbirnwein. (1:830.)

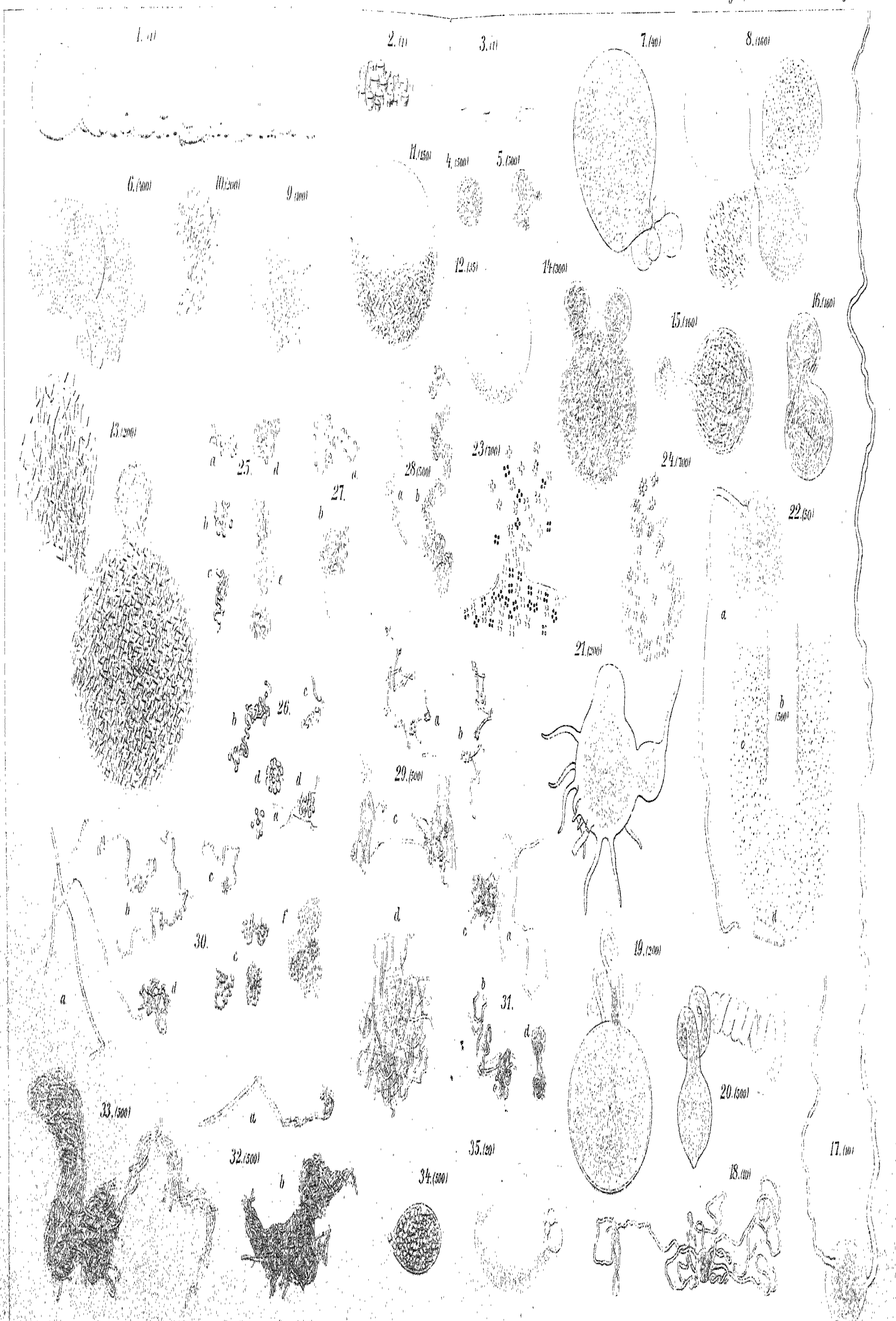
Fig. 85. Tetraden von i, voraussichtlich zu Micrococcus cystiopœus n. sp. gehörig, aus einer Reinkultur in unvergorenem Wasserbirnmost, stammt aus einer Diplokokken und Tetraden enthaltenden Blase eines Schellerbirnweines. (1:830.)

Fig. 86. Tetraden aus einer in einem Sürler- und Ottenbacher Schellerbirnwein entstandenen Blase. (Abbildungen solcher Blasen in Fig. 23, 24, 52 und 53.) Die Tetraden sind beträchtlich größer als in Fig. 84 und 85, bestehen eigentlich aus einer kleinen Schleimkugel, in der die vier voneinander getrennten Kokken stecken. (1:350.)

Fig. 87. Bakterien mit Endosporen aus einer der in Fig. 1 abgebildeten großen Blasen aus Reinholzbirnwein. Doppelfärbung. (1:830.)

Fig. 88. Bakterien aus einer 3-jähr. Blase in Fischbächlerbirnwein. (1:940.)

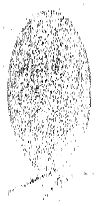
Fig. 89. Bakterien aus einer Blase aus Teilersbirnwein, wie vorige wahrscheinlich zu Bact. mannitopœum gehörig. (1:940.)

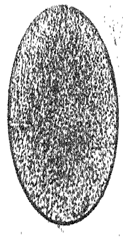


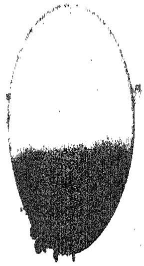
H. Müller-Thurgau gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

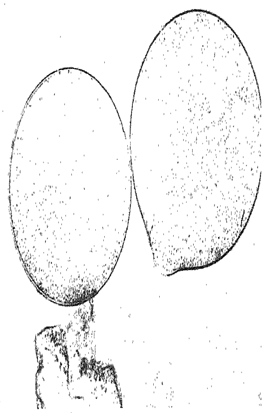

36 (300)


37 (400)

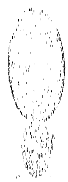

38 (300)

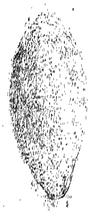

39 (300)


40 (30)

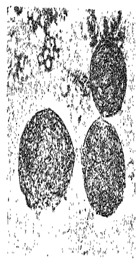

41 (300)


51 (300)

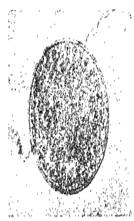

42 (330)


43 (330)

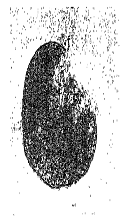

44 (330)

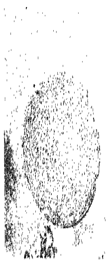

45 (330)


50 (500)

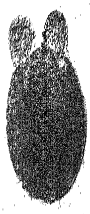

52 (500)


53 (500)


54 (330)


46 (330)

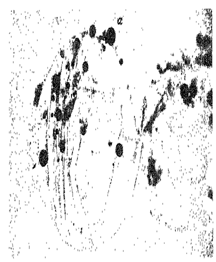

47 (330)

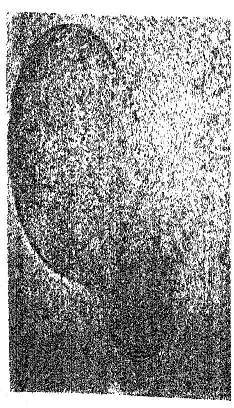

48 (330)

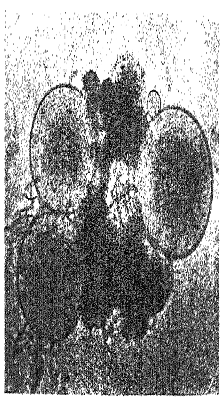

49 (330)

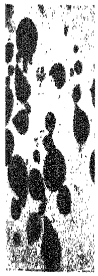

57 (330)

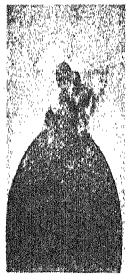

59 (600)

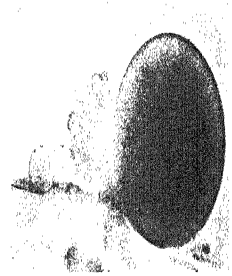

58 (30)


55 (350)


56 (250)

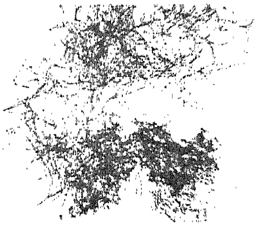

62 (15)


61 (360)


60 (360)

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

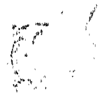
Crayondruck von J. B. Obernetter, München.



63 (150)



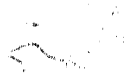
64 (660)



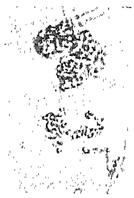
66 (500)



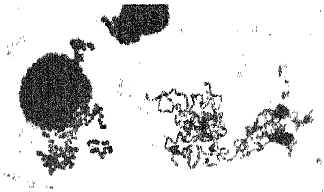
65 (350)



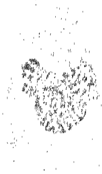
67 (500)



68 (500)



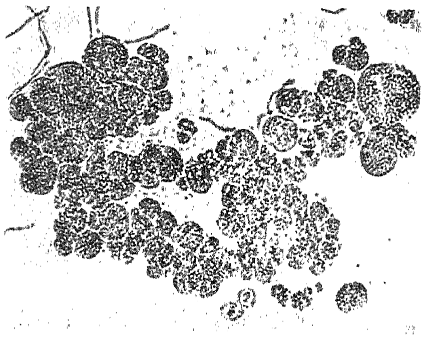
69 (600)



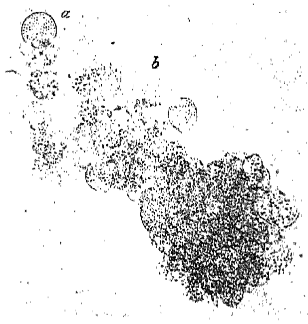
70 (900)



71 (600)



72 (600)



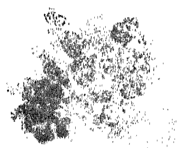
73 (300)



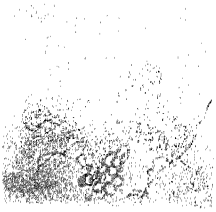
74 (600)



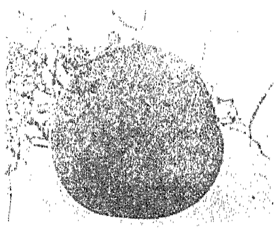
75 (500)



76 (300)



77 (350)

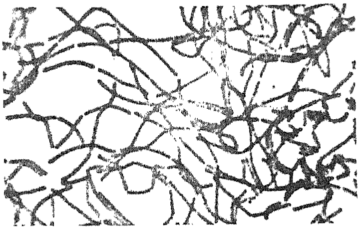


78 (350)

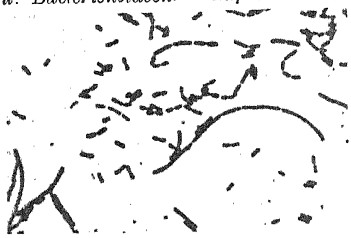


79 (600)

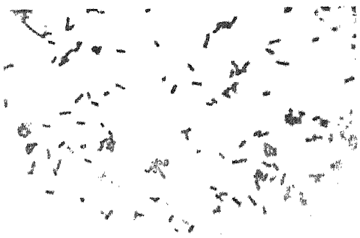
Verlag von ***Gustav Fischer*** *in* ***Jena.***
Crayondruck von J. B. Obernetter, München.



80 (830)



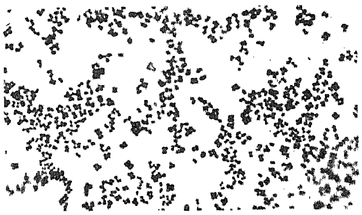
81 (830)



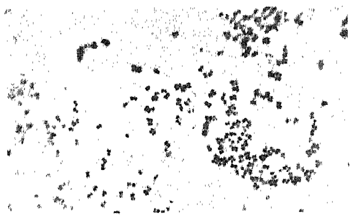
82 (940)



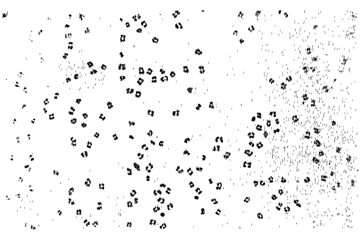
83 (830)



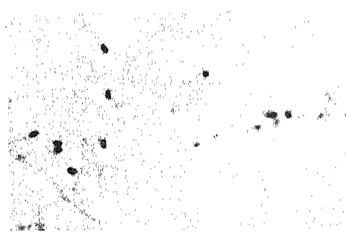
84 (830)



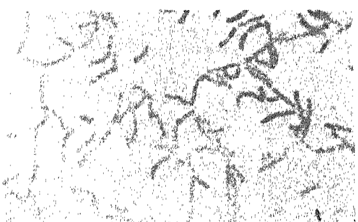
85 (830)



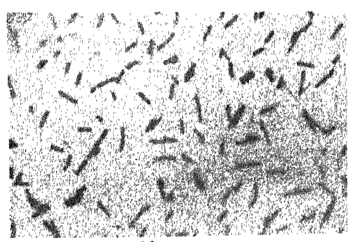
86 (350)



87 (830)



88 (940)



89 (940)

Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

Ein Beitrag zur Kenntnis wasserstoffoxydierender Mikroorganismen. II.

Von **Bronisław Niklewski,** Dublany bei Lemberg.

Die Frage der wasserstoffoxydierenden Mikroorganismen, welche auf anorganischer Nährlösung in der mit CO_2 versetzten Knallgasatmosphäre eine dicke Kahmhaut bilden, war noch wenig aufgeklärt, da sich der bakteriologischen Untersuchung der Kahmhaut Schwierigkeiten entgegenstellten.

Erst jetzt ist mir ein Einblick in diese Verkältnisse gelungen.

Ich knüpfe an die Untersuchungen an, welche ich vor Jahresfrist publiziert habe[1]) und über die ich referieren will, da es in dieser Zeitschrift noch nicht geschehen ist.

Erdproben verschiedener Herkunft [Schlamm, Gartenerde (von der Oberfläche entnommen), Heideerde, Lauberde, Torf], wie auch mit Erde beimpfte Bodenextraktlösungen wurden in eine Knallgasatmosphäre in Erlenmeyer-Kölbchen gebracht, die verschlossen mit einem Zuleitungsrohr und einer in Quecksilber getauchten Röhre von Barometerlänge versehen waren. Die Kölbchen wurden in einer Temperatur von ca. 27°, in späteren Versuchen bei 33° C gehalten. Meistens wurde schon nach wenigen Tagen an dem Steigen der Quecksilbersäule ein Schwinden des Gases wahrgenommen. Die Säule stieg anfangs langsam, am 3. oder 4. Tage des Steigens schneller, bisweilen 1 ccm pro Stunde; allmählich nahm das Schwinden des Gases ab, die Säule erreichte 50, bisweilen 60 cm, manchmal 66 cm Höhe. Daraus schon ergab sich, daß beide Bestandteile des Knallgasgemisches verschwinden, was auch gasanalytisch festgestellt werden konnte.

Auf den Bodenextraktlösungen entwickelte sich dabei eine Kahmhaut, deren Bildung von der Gegenwart der Knallgasatmosphäre abhing, an der Luft also unterblieb. Unter diesen Bedingungen lieferte also anscheinend der Wasserstoff die zur Bildung der Kahmhaut notwendige Betriebsenergie. So konnten denn weitere Untersuchungen in üblicher Weise in Reagenzglaskulturen geführt werden, welche unter Glasglocken in einer Knallgasatmosphäre gehalten wurden; die Bildung einer Kahmhaut war das Anzeichen wasserstoffoxydierender Organismen. Anstatt der Bodenextraktlösungen wandte ich die von Dr. Hermann Kaserer in der vorläufigen Mitteilung[2]) vorgeschlagene anorganische Nährlösung an. Gleich bei der ersten Umimpfung entwickelte sich die Kahmhaut sehr üppig und oxydierte energisch Wasserstoff.

Das makroskopische Aussehen der Kahmhaut ist sehr charakteristisch; sie ist schleimig, anfangs weiß, in älteren Stadien mehr gelblich, fest zusammenhängend. Mikroskopisch betrachtet, setzt sie sich gleichmäßig aus unbeweglichen Stäbchen von ca. 1,5 μ Länge und ca. 0,2 μ Dicke zusammen. (Ein makroskopisches, sowie mikroskopisches Bild enthält meine zitierte Abhandlung.)

---

1) Ein Beitrag zur Kenntnis wasserstoffoxydierender Mikroorganismen. (Extrait du Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie. Classe des sciences mathématiques et naturelles. 1906. Déc. p. 911.)

2) Ueber die Oxydation des Wasserstoffs und des Methans durch Mikroorganismen. (Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VIII. 1905. p. 789; Autoreferat Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. p. 573.)

Diese Kahmhaut entwickelt sich auf anorganischer Nährlösung nur in der Knallgasatmosphäre. Auf einer beimpften Nährlösung macht sich an der Luft selbst nach Wochen kein Wachstum oder höchstens ein ganz schwaches, kaum sichtbares Häutchen bemerkbar (auch nicht bei 33° in der Laboratoriumsluft). Die Entwickelung einer üppigen Haut setzt aber sofort ein, wenn diese an der Luft gehaltenen Kulturen in eine Knallgasatmosphäre gebracht werden. Die Hautbildung ist oft schon am 3. Tage sichtbar.

Die Kahmhaut besteht aus Kohlenstoffverbindungen, was durch Verbrennung mittels Chromschwefelsäure festgestellt wurde. Das Kohlenstoffmaterial liefert die freie CO_2, wie folgender Versuch lehrte: Es wurden 3 Godlewski-Kolben mit gleicher anorganischer Nährlösung, welche unter anderem 0,1 Proz. Natriumkarbonat enthielt, angesetzt. Das Volumen der in den Kolben zur Verfügung stehenden Knallgasatmosphäre betrug ca. 800 ccm. In jeden Kolben wurde ein Stückchen frisch entwickelter Kahmhaut gebracht.

I. Kolben enthielt 20 ccm CO_2.

II. Kolben enthielt keine CO_2; das eingeleitete Gas wurde durch KOH gewaschen.

III. In den Kolben war ein Röhrchen mit KOH eingehängt.

Die Kulturen wurden zwischen 2—4 Uhr nachmittags am 13. Juli 1906 angesetzt.

Temperatur 32—33° C.

I. Kolben.

		Stand der Quecksilbersäule	Volumenabnahme pro 1 Stunde. Gas red. auf 760 mm, 0°
14. Juli 1906	11^h abends	0 cm	
15. „ 1906	9^{45} morgens	7,0 „	7,3 ccm
	2^{45} nachmittags	12,2 „	9,5 „
	8^{45} abends	19,6 „	11,6 „
16. „ 1906	7^{20} morgens	38,3 „	15,3 „
	9^{20} morgens	42,4 „	19,6 „
Der Kolben wurde von neuem unter Zusatz von 10 ccm CO_2 mit Knallgas gefüllt.			
16. Juli 1906	3^{20} nachmittags	1,1 cm	
	10^{15} abends	7,2 „	8,2 ccm
17. „ 1906	10^{15} morgens	15,8 „	6,8 „
	9^{15} abends	20,4 „	3,8 „
18. „ 1906	8^h morgens	24,8 „	3,7 „
	7^{30} abends	28,4 „	3,1 „
19. „ 1906	9^{30} morgens	32,2 „	2,6 „
	5^{30} abends	34,8 „	3,0 „

II. Kolben.

20. Juli 1906	8^{30} morgens	1,4 cm
	9^h abends	5,7 „
21. Juli 1906	8^{45} morgens	10,4 „
	5^{40} abends	13,2 „

In diesem Kölbchen war das Häutchen sehr schwach entwickelt.

III. Kolben.

Die Quecksilbersäule war am 24. Juli gar nicht gestiegen; es war keine Kahmhaut auf der Oberfläche zu sehen.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß zur Bildung der Kahmhaut freie CO_2 notwendig ist.

Aus dem Steigen der Säule in Kolben I ist auch ersichtlich, daß die Oxydation in den Anfangsstadien der Entwickelung des Häutchens besonders lebhaft ist. Es scheint die Oxydation des Wasserstoffes mit dem Wachstum parallel zu laufen.

Die Wasserstoffoxydation ist jedoch nicht die einzige Existenzmöglichkeit des Organismus (oder der Organismen) der Kahmhaut. Sie bildete sich auf Nährlösungen, welche Acetate enthielten, auch an der Luft; auf diese Weise konnte sie mehrere Generationen hindurch erhalten werden, ohne daß ein Eingehen der Kultur erfolgt wäre. Wiederum auf anorganische Nährlösung umgeimpft, entwickelte sie sich in der Knallgasatmosphäre und brachte diese zum Verschwinden. Ebenso wurden auch andere organische Verbindungen, selbst Zucker-Peptonlösungen, als geeignete Medien für diesen Organismus (oder diese Organismen) benutzt. Doch ist auf einer organischen Nährlösung, welche allein zur Bildung der Kahmhaut genügt, auch eine Oxydation des Wasserstoffes nicht ausgeschlossen. Die Kahmhaut oxydierte Wasserstoff auch auf einer Acetat enthaltenden Nährlösung. Doch war hierbei freies CO_2 anscheinend entbehrlich. Ein Röhrchen mit KOH, in das Kölbchen hineingehängt, war ohne Einfluß auf die Oxydation des Wasserstoffes. Vielleicht ist aber die durch die Oxydation des Acetats gebildete CO_2 sofort wieder verarbeitet worden.

Diese Resultate schienen mir nicht ohne Interesse für die Physiologie zu sein, aber eine rechte Deutung und Würdigung der festgestellten Tatsachen scheiterte daran, daß der bakteriologischen Untersuchung der Kahmhaut sich Schwierigkeiten entgegenstellten. Wie ich in jener Arbeit mehrfach hervorhob, sind alle meine Versuche, den Organismus durch Platten (organische oder anorganische) zu reinigen, fehlgeschlagen. Es traten bald mehr, bald weniger Kolonieen auf, die ich als Verunreinigungen ansah, da sie auf anorganischer Nährlösung eine Kahmhaut nicht zu bilden vermochten und auch Wasserstoff nicht oxydierten. Es ließen aber die Schwierigkeiten, die bei der Isolierung des anscheinend reinen Materials auftraten, auf komplizierte Verhältnisse schließen. Mein Augenmerk war daher vor allem darauf gerichtet, die Frage zu lösen.

Die Arbeit des Herrn Dr. Hermann Kaserer[1]) hatte in dieser Frage gleichfalls keine Klarheit geschaffen, wohl aber die Bestätigung von den Schwierigkeiten der Isolierung gebracht. Der wasserstoffoxydierende Organismus, der Gegenstand meiner Untersuchungen ist, scheint identisch zu sein mit dem eine Kahmhaut bildenden Organismus H. Kaserers, welchen der Autor Bac. oligocarbophilus nennt. Derselbe Organismus scheint auch in den Versuchen von A. J. Nabokich und A. F. Lebedeff[2]) vorzuliegen.

Der von mir untersuchte Organismus (der Kahmhaut) ist nämlich in der Natur sehr verbreitet. Ich habe bis jetzt keine Erdprobe gefunden, aus der ich nicht die wasserstoffoxydierende Kahmhaut zur Entwickelung bringen könnte. Die morphologischen Beschreibungen, die ich in den beiden Arbeiten finde, stimmen im wesentlichen mit meinen Beobachtungen überein. Auch sind die Kulturbedingungen in allen 3 Fällen wesentlich dieselben. Nabokich und Lebedeff wenden allerdings als N-Quelle besser Nitrate an.

Wesentlich sind aber die physiologischen Unterschiede, die zwischen der von H. Kaserer und von mir untersuchten Kahmhaut zu bestehen scheinen, und zwar in folgenden Punkten[3]):

---

1) Die Oxydation des Wasserstoffes durch Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906. Juli, Aug. p. 681, 769.)

2) Ueber die Oxydation des Wasserstoffes durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. Nov. p. 350.)

3) Die zitierte Abhandlung p. 914, 915.

1. Während ich in den anorganischen Nährlösungen nach Wochen entweder gar kein Wachstum oder höchstens ein ganz schwaches, kaum sichtbares Häutchen beobachten konnte, identifiziert H. Kaserer den von ihm untersuchten Organismus mit Bac. oligocarbophilus Beijerinck, einem Organismus, der ein ausgesprochenes Vermögen besitzt, eine flüchtige C-Verbindung der Luft sich nutzbar zu machen. Leider führt der Autor keine Beweise für die Identität an, zumal eine Reinkultur des Bac. oligocarbophilus Wasserstoff nicht oxydierte.

2. Während ich bei dem Organismus die Möglichkeit einer heterotrophen Ernährungsweise fand, findet H. Kaserer, daß in der Kahmhaut sich bisweilen als Verunreinigung ein Organismus fand, der auf organischer Lösung wächst und den er als Bac. pantotrophus bezeichnet; dieser Organismus oxydiert Wasserstoff auf anorganischer Nährlösung, hat aber mit der Kahmhaut nichts gemein. Leider finde ich keine ausführlichen Versuche, welche bei Bac. oligocarbophilus der Kahmhaut den Grad der Abneigung gegen organische Verbindungen zeigen. Die Feststellung des Verhaltens des Organismus gegen organische Verbindungen scheint mehr deduktiver Natur zu sein, aus der Kohlensäureassimilationshypothese zu entspringen.

3. Im Zusammenhange damit scheint auch das Verhalten des Organismus gegenüber CO zu stehen. „Die Tatsache", schreibt der Autor, „daß Bac. oligocarbophilus Kohlenoxyd veratmet, ist sicher festgestellt." Wiewohl die Fähigkeit einer Kohlenoxydveratmung a priori zuzugeben ist, scheinen mir die Versuche des Autors nicht sehr beweiskräftig zu sein; übrigens scheint auch H. Kaserer die Versuche nicht als abgeschlossen zu betrachten, da „die Launenhaftigkeit des Organismus mitunter sehr stört, da er aus unbekannten Ursachen hier und da überhaupt nicht wächst". Mit Rücksicht auf diese Erörterungen habe ich verschiedene Versuche mit CO angesetzt. Allein es unterblieb in einer CO-Luftatmosphäre jegliches Wachstum, noch ließ sich ein Verschwinden von CO bei Wasserstoffoxydation wahrnehmen; ein Zusatz von 2 Proz. CO übte keine hemmende Wirkung auf die Wasserstoffoxydation aus.

4. Ferner, scheint es mir, bedarf das Verhalten des Organismus gegenüber der Nitrifikation einer Aufklärung. In der vorläufigen Mitteilung teilt Herr H. Kaserer mit, daß, solange Wasserstoff den Rohkulturen zur Verfügung stand, nie Nitrit auftrat. Bei geringer Luftzufuhr fand die Nitrifikation erst dann statt, wenn der Wasserstoff verschwunden war. Bei genügender Luftzufuhr waren beide Prozesse nebeneinander möglich. Da der Autor in der Hauptarbeit auf diesen Punkt gar nicht mehr eingeht, so vermute ich, daß jene Beobachtung auf einer Verunreinigung mit Nitrifikationsorganismen beruhte. In meinen Kulturen, die ja stets Ammoniaksalze enthalten, konnte ich weder die Jod- noch die Diphenylreaktion wahrnehmen, und zwar weder unmittelbar, nachdem sie aus der Knallgasatmosphäre herausgenommen wurden, noch nach längerem Verweilen an der Luft.

Trotz all dieser Differenzen habe ich doch den Eindruck, daß der die Kahmhaut bildende Organismus H. Kaserers mit dem von mir untersuchten Organismus identisch ist.

Die Frage der Reinzucht.

Erneute Versuche, welche auf die bakteriologische Untersuchung der Kahmhaut abzielten, haben mich überzeugt, daß auf Agar-Agar, welcher anorganische Salze in der üblichen Zusammensetzung enthielt, sich um ein Stückchen Kahmhaut in der Knallgasatmosphäre zahlreiche gelbe Kolonieen entwickeln. Damit muß ich die als Vermutung ausgesprochene

Aeußerung, daß der fragliche Organismus auf der Platte seine Existenzbedingungen verliert[1]), berichtigen. Unter zahlreichen Abimpfungen, die ich von diesen dicht nebeneinanderliegenden Kolonieen machte, gelang es mir in einigen, sehr wenigen Fällen, eine Kahmhaut zur Entwickelung zu bringen. Dieser günstige Zufall schien mir auf der Abimpfung mindestens zwei verschiedener Kolonieen zu beruhen. Doch konnte ich unter diesen dichten Kolonieen keine Unterschiede wahrnehmen. Andere leicht kenntliche Verunreinigungen, welche in weit geringerer Anzahl vorhanden waren, schienen auch nicht beteiligt zu sein. Erst zahlreiche Beobachtungen lehrten mich schließlich, zwei Arten von Kolonieen unterscheiden.

Die Größe der Organismen zeigt keine wesentlichen Unterschiede, sie gleichen den Organismen der Kahmhaut, nur sind sie auf Agar-Agar beweglich. Die Kolonieen, unter schwacher Vergrößerung beobachtet, zeigen äußerst geringe Unterschiede: Beide sind gekörnt, mit scharfem Rande, mit einem dunkleren Zentrum; nur ist die eine etwas dunkler gelb als die andere. Am besten treten aber die Unterschiede hervor, wenn man die ausgewachsenen Kolonieen (also auf einer Platte, auf der nur wenige Kolonieen wachsen) mit bloßem Auge bei auffallendem Tageslichte beobachtet. Die eine ist gelb glänzend, die andere blaß, matt, mehr grau. Anfangs hielt ich diese Unterschiede für unwesentlich, zumal die gelben glänzenden Kolonieen oberflächlich etwas gewölbt wuchsen, während die matten Kolonieen tiefer gelegen waren; diese Beobachtung wird wohl aber nicht allgemeingültig sein. Doch Umimpfungen auf Agar mit anorganischen Nährsalzen zeigten deutlich, daß zwei verschiedene Organismen vorlagen. Die in der Knallgasatmosphäre gehaltenen Kulturen entwickelten sich gut, sie unterschieden sich auffallend durch ihre Farbe; die eine war gelbglänzend, die andere mattgrau. Auf anorganische Nährlösungen umgeimpft, entwickelt sich allein keiner der beiden Organismen in nennenswerter Weise. Die Flüssigkeit bleibt ganz klar oder es tritt bisweilen nur eine ganz schwache Trübung auf; dies geringe Wachstum ist wohl auf geringe C-Verunreinigung zurückzuführen, sei es infolge der Impfung oder nicht absolut reiner Materialien (Wasser, Wattestopfen). Diese Frage werde ich bei weiteren Untersuchungen berücksichtigen. Dagegen entsteht in der Knallgasatmosphäre in wenigen Tagen (schon am 3.) eine üppige Hautbildung, wenn beide Organismen zusammen in die anorganische Nährlösung geimpft werden. Der Wasserstoff wird intensiv oxydiert; in einem Falle stieg die Quecksilbersäule bis auf 62 cm. Das Häutchen unterscheidet sich makroskopisch in keiner Weise von der bisher untersuchten Kahmhaut. Doch ist hervorzuheben, daß unter der Kahmhaut eine mehr oder weniger starke Trübung entsteht. Bisweilen ist diese Trübung sehr stark, das Häutchen dagegen schwach entwickelt. Doch wenn auch in früheren Untersuchungen (vor der Isolierung der Organismen) die Flüssigkeit unter der Haut fast ganz klar war, so trat bei Tochterkulturen die Trübung bisweilen wieder auf. Die Kahmhaut ist nicht als charakteristisches Merkmal der Wachstumsweise der Organismen zu betrachten. In weiteren Untersuchungen werde ich die Bedingungen zu präzisieren versuchen, unter denen die Trübung bezw. Kahmhaut entsteht.

Es liegt hier also ein interessanter Fall einer symbiotischen Wechselwirkung zweier Organismen vor, die eine prototrophe Lebensweise unter Wasserstoffoxydation und CO_2-Reduktion ermöglicht. Ich werde bemüht sein, das Verhältnis dieser Symbiose aufzuklären.

Dublany, den 14. Dezember 1907.

Nachdruck verboten.

Eine fettspaltende Bakterie (Bactridium lipolyticum n. sp.).

[Arbeit aus der bakteriologischen Abteilung der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. H. Weigmann.]

Von Dr. **Harald Huss,**

Botaniker am Gesundheitsamte Stockholm.

Während meiner Assistentenzeit in Kiel[1]) wurden dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation einige Milchproben zur bakteriologischen Untersuchung geschickt. Auf einem Gute in Schlesien war nämlich seit längerer Zeit die Beobachtung gemacht worden, daß die Milch sowohl im Winter wie im Sommer nicht gut schmeckte. Am frühesten und am stärksten konnte der Fehler beim Rahm wahrgenommen werden, der schon einige Stunden nach dem Melken die fehlerhafte Erscheinung zeigte. Bei der Milch und Butter trat der unangenehme Geschmack erst später auf.

Die Viehbesetzung des betreffenden Gutes setzt sich aus zwei Rassen zusammen, und zwar aus Montavoner und Holländer Kühen. Die von den Holländer Kühen erhaltene Milch war fehlerfrei, nur die Montavoner Kühe lieferten eine schlechte Ware. An dem dem Vieh gereichten Futter konnte der Fehler voraussichtlich nicht liegen, da die fehlerhafte Beschaffenheit bei gleicher Fütterung der Tiere nur der Milch der Montavoner Kühe anhaftete. Der Einsender der Milchproben war der Ansicht, daß Eiterung im Euter hervorrufende Bakterien im Spiele seien; in dieser seiner Meinung wurde er durch den Umstand bestärkt, daß bei den Montavoner Kühen wiederholt blutige Milch beobachtet worden war. Von dem Tierarzt waren die Tiere für gesund erklärt; nur hatte er keine bakteriologische Untersuchung der Euterpartieen vorgenommen.

Zur Beantwortung lag also die Frage vor, ob irgend welche Bakterien in der Milch zugegen waren, denen die Ursache der Fehlerhaftigkeit derselben zugeschrieben werden könnte.

Die eingesandte Milch war eine Durchschnittsprobe der Morgen-, Mittag- und Abendgemelke der Montavoner Kühe. Dieselbe war in zwei Portionen geteilt und auf dunkle Flaschen abgefüllt. Vor dem Absenden hatte die eine Flasche (a) 2 Tage auf Eis gestanden, während die andere Portion (b) ebensolange bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden war. Als die beiden Milchproben bei uns ankamen und in Untersuchung genommen wurden, hatten dieselben ein Alter von 5 Tagen.

Physikalische Untersuchung.

a) Nicht geronnen, im Geschmack süß und gleichzeitig ranzig.

b) Geronnen, Geschmack säuerlich ranzig, Geruch nach Buttersäure.

Mykologische Untersuchung.

1) Mikroskopische Analyse gefärbter Ausstrichpräparate der Milchproben:

a) Vereinzelte Kokken als Mono- und Diplokokken (vergl. die Morphologie der Milchkulturen der in der Folge beschriebenen Bakterie: Bactridium lipolyticum).

b) Reich an Bacterium Güntheri, außerdem Mono- und Diplokokken.

---

1) 1906—1907.

2) Kulturelle Untersuchung.

Es wurden von den Milchproben Dextrose-Agarplatten (1 Proz. Dextrose), Dextrose-Gelatineplatten (1 Proz. Dextrose) und Dextrose-Agarschüttelkulturen (1 Proz. Dextrose) angelegt. Die Agarkulturen standen bei 37 ° C, die Gelatinekultnren bei 20 ° C.

Folgende Mikroorganismen kamen auf den Agar- bezw. den Gelatineplatten zur Entwickelung:

a) Pseudomonas coli vereinzelte Kolonieen.

Bacterium aërogenes Torula-Hefe Rosa-Hefe Oidium lactis Penicillium-Art	geringere Mengen.
Bacterium Güntheri	gegenüber den vorstehenden Mikroben recht reichlich vorhanden.
Gelatine verflüssigendes Stäbchen (Bactrid. lipolyt.)	im weitaus größten Prozentsatz vertreten.

b) = a) nur mit dem Unterschied, daß hier Bacterium aërogenes und ganz besonders Bacterium Güntheri überwiegen. Von dem Bactridium lipolyticum kamen nur ganz vereinzelte Kolonieen zur Entwickelung.

Gleich nach dem Isolieren der vorstehenden Pilze wurde pasteurisierter Rahm mit ihnen geimpft, um die Einwirkung derselben auf das Milchfett festzustellen. Es ergaben diese Vorversuche, daß nur die verflüssigende Bakterie, das Bactridium lipolyticum, der Urheber der fehlerhaften, ranzigen Beschaffenheit der eingesandten Milch sein könnte. Näheres über diese Versuche bringt die Beschreibung der Milch- und Rahmkulturen der im folgenden morphologisch und biologisch charakterisierten Bakterie.

Der Mikroorganismus ist, wie sowohl die nach der Zettnowschen Versilberungsmethode, wie die nach Löffler angefertigten Präparate zeigten, ein peritrich begeißeltes Stäbchen. Neben diesem morphologischen Charakter besitzt die Bakterie die physiologische Eigenschaft, fettspaltende Enzyme zu erzeugen. Ich schlage daher, der Fischerschen Nomenklatur folgend, den Namen Bactridium lipolyticum vor.

Morphologie.

Ein kleines, oft kokkenförmiges Kurzstäbchen, das in 24-stündigen, bei 37 ° C gezüchteten Agarstrichkulturen folgende Größenmaße aufweist:

Länge: 0,7—1,4 μ.
Breite: 0,3—0,55 μ.

Die meisten Individuen besitzen eine Länge von 1,05 μ; mitunter erreichen sie aber auch ein Längenmaß von bis zu 3,5 μ. Kokkenähnliche Zellen sind auch auf Agar nicht selten.

In Gelatinekulturen haben die Zellen fast ausnahmslos Kokkenform. Sie sind bald als Einzel-, bald als Doppelkokken vorhanden. Die diplokokkenähnlichen Verbände sind häufig. Ueberhaupt zeigt die Bakterie in diesem Nährboden Neigung zur Bildung von Verbänden; kurze Ketten, die fast das Aussehen von Streptokokken haben, sind nicht selten.

In Milch (10 Tage alte, bei 20 ° C gezüchtete Kultur) besitzen die Zellen ausgesprochene Kokkenform. Es kommt die Bakterie teils als Mono-, teils als Diplokokken vor. Längere Verbände sind äußerst selten.

Die Einzelindividuen messen gewöhnlich etwa 0,7 μ im Diameter. Zwischen den kokkenförmigen Individuen beobachtet man ganz vereinzelte Zellen von mehr langgestreckter Gestalt.

Eigenbewegung.

Die Bakterie ist durch peritriche Begeißelung ausgezeichnet. Die Bewegungen, die äußerst lebhaft sind, äußern sich teils in Vorwärts-, teils in Rotationsbewegungen an ein und derselben Stelle. Bei den Vorwärtsbewegungen wirbelt der Körper fast immer ununterbrochen um die Querachse herum.

Färbbarkeit.

a) Karbolfuchsin: leicht und gut tingierbar.
b) Nach Gram: Die Färbung fällt positiv aus.

Sauerstoffbedürfnis.

Die Bakterie vermehrt sich zwar in Stickstoffatmosphäre, das Gedeihen ist aber, auch bei der optimalen Temperatur, nicht gut. Es bildet sich auf Agar mit schräger Fläche ein ganz dünner, durchsichtiger Belagstreifen.

Ansprüche an Temperatur.

Für die Feststellung der für das Wachstum günstigsten Temperatur wurden Agarstrichkulturen benutzt.

Resultat:
Bei 55° C: kein Wachstum.
„ 51° C: „ „
„ 45° C: äußerst schwaches Wachstum.
„ 40° C: ziemlich gutes Wachstum.
„ 35° C: sehr gut entwickelter, kräftiger Belag.
„ 30° C: fast ebensogutes Wachstum wie bei 35° C.
„ 20° C: gutes, aber nicht so starkes Wachstum wie bei 30° C.
„ 14° C: gutes Wachstum, etwas schwächer entwickelter Belag als bei 20° C.

Einfluß der Reaktion und der Zusammensetzung des Nährsubstrats auf das Wachstum.

Aus der Beschreibung der verschiedenen Kulturen ersieht man, daß das Bactridium lipolyticum sehr gut auf allen in dieser Arbeit benutzten Nährböden gedeiht. Die Reaktion des Substrats übt keinen Einfluß auf das Wachstum der Bakterie aus.

Gelatineplatten. Temp. 20° C.

a) Natürliche Größe.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 48 Stunden auf dünnbesäten Platten etwa 1 mm im Diameter fassende, uhrenglasförmige, kreisrunde, von der festen Gelatine scharf getrennte Verflüssigungschalen. Die verflüssigte Gelatine ist durch die feine Verteilung der Bakterienmasse durchsichtig grau und trübe; im Zentrum erblickt man eine rundliche, kleinere oder größere Ansammlung von dichterer Bakterienmasse, die diesem Teil des Verflüssigungstrichters eine weißliche Farbe verleiht. Beim durchfallenden Licht erscheint die zentrale Partie bräunlich, der Rand farblos, durchsichtig. Am 3. Tage messen die uhrglasförmigen Kolonieen etwa 2 mm im Diameter. Im übrigen ist das Aussehen un-

verändert. In den älteren Stadien der Entwickelung stimmt ihre Form und die Anordnung der Bakterienmasse in den Verflüssigungsschalen mit dem Habitus der Gelatinetupfkolonieen.

2) Tiefenkolonieen: Solange die Tiefenkolonieen in der Gelatine eingeschlossen bleiben, erscheinen sie als kleine, grauweiße Pünktchen. Nachdem dieselben die Oberfläche des Substrats erreicht haben, nehmen sie allmählich die Gestalt von Oberflächenkolonieen an.

b) Bei 90-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: Dem für das unbewaffnete Auge weißlichen Zentrum der Verflüssigungsschalen entspricht im mikroskopischen Bilde eine bräunliche oder bräunlichgelbe, feinpunktierte, am Rande stark zerfetzte Scheibe. Die diese umgebende flüssige Gelatine zeigt sich bei 90-facher Vergrößerung durch die in derselben herumschwimmende, fein verteilte Bakterienmasse feinkörnig.

2) Tiefenkolonieen: Die 48 Stunden alten Tiefenkolonieen sind bläulichgrau, rundlich, am Rande fein zerrissen oder zerfetzt. Dieselben besitzen durch die in der Bakterienmasse radial verlaufenden, feinen Kanälchen eine strahlige Zeichnung.

Gelatine-Tupfkolonieen. Temp. 20° C.

Bringt man eine Oese flüssiger Gelatinekultur auf erstarrte Gelatine, so erscheinen nach etwa 20 Stunden auf den Platten etwa 7 mm im Diameter messende, kreisrunde, uhrglasförmige, von dem festen Substrat scharf abgesetzte Verflüssignngsschalen, in welchen die Bakterienmasse sich so angeordnet hat, daß das Ganze einem Rade, mit nach der Peripherie zu immer dicker werdenden Speichen, ähnlich ist. Am 2. Tage haben die Verflüssigungszonen einen Durchmesser von 1—1,2 cm. Die Konturen der Speichen in der radförmig angeordneten Bakterienmasse sind jetzt etwas verschwommen, gebogen und teilweise aufgelöst. Die Peripherie der Schalen erscheint homogen grau, während das Zentrum seine weißliche Farbe noch besitzt. Die 4-tägigen Kolonieen sind 2,5 bis 3 cm im Diameter, kreisrund und von der festen Gelatine scharf getrennt. Das Zentrum derselben ist auf diesem Stadium gelblich-grau und besteht aus dichter Bakterienmasse, die sich gegen die Peripherie der Verflüssigungsschalen zu allmählich auflöst, ohne dabei den Kolonieen irgend einen spezifischen Charakter durch ihre Anordnung zu verleihen. Mitunter zeigt die äußere Partie der Kolonie eine konzentrische Zeichnung.

Gelatinestich. Temp. 20° C.

Nach 24 Stunden ist eine etwa 3 mm im Durchmesser fassende Schale an der Stichöffnung entstanden. Dieselbe ist mit flüssiger, trüber Gelatine gefüllt und geht unten in den fadenförmigen Stichkanal über. Am 3. Tage hat die Verflüssigung die Wand des Kulturglases erreicht. Die Verflüssigungsschale geht jetzt allmählich, trichterförmig in den unteren Teil des Stichkanals über, in welch letzterem die Verflüssigung sich bis zum Boden erstreckt. Sobald die obere Partie des Stiches die Wand erreicht hat, schreitet die Verflüssigung cylindrisch längs der Glaswand weiter. Die flüssige Gelatine ist stark trübe. Eine Haut wird nicht gebildet. Am 5. Tage hat der cylindrische Verflüssigungstrichter eine Tiefe von etwa 1 cm. In der schmalen Partie des Kanals sammelt sich reichlich mit weißlichgelber Bakterienmasse an. Eine 3-wöchige Kultur ist vollständig flüssig.

Agarplatte. Temp. 37° C.

a) Natürliche Größe.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 24 Stunden kreisrunde, höchstens 1 mm im Durchmesser fassende, schwach erhabene, saftig glänzende, glattrandige, auf schwarzer Unterlage grauweiße Kolonieen von Butterkonsistenz. Am 3. Tage besitzen die Belage ein Diameter von 1,5 mm und sind wie die jüngeren Kolonieen kreisrund, saftig glänzend und glattrandig. In Bezug auf ihre Erhebung vom Substrate ist zu bemerken, daß die Kolonieen jetzt fast nagelkopfförmig sind. Auf schwarzer Unterlage erscheinen sie bei diesem Alter fast meist milchweiß, beim durchfallenden Lichte bräunlich-grau.

In ihren späteren Entwickelungsstadien behalten die Oberflächenkolonieen ihre kreisrunde Form und saftig glänzende Oberfläche. Das erhabene Aussehen geht aber allmählich verloren, die Kolonieen werden mit der Zeit ganz flach, ohne sich dabei merkbar zu vergrößern.

2) Tiefenkolonieen: Kugelige oder wetzsteinförmige, weißliche Pünktchen oder kreisrunde, glattrandige, horizontal ausgebreitete, grau gefärbte Scheiben.

b) Bei 90-facher Vergrößerung.

1) Oberflächenkolonieen: Nach 4 Stunden kreisrunde, glattrandige, bräunliche, am Rande gelbliche bis farblose Kolonieen, die fast homogen erscheinen.

Die 3 Tage alten Kolonieen sind auch kreisrund, glattrandig und feinkörnig gezeichnet. Die Farbe derselben gleicht derjenigen der 24-stündigen Belage. Sie haben jetzt eine deutliche, konzentrische innere Zeichnung. Mitunter verläuft der Rand schwach wellig.

Die älteren Stadien erscheinen bei mikroskopischer Beobachtung kreisrund, bräunlich-gelb, am Rande fast farblos. Der zentrale Teil der Kolonieen ist gewöhnlich grob gekörnelt, während die Randpartie eine feine Punktierung aufweist. Die Kolonieen unterscheiden sich von den jüngeren Stadien durch das Aussehen ihres Randes. Dieser ist mit kleineren oder größeren Ausbuchtungen versehen.

2) Tiefenkolonieen: Die makroskopisch kugeligen oder wetzsteinförmigen Tiefenkolonieen sind in den ersten 24 Stunden bräunlichgelb, glattrandig und homogen oder schwach fein punktiert. In den älteren Entwickelungsstadien haben sie eine fast rotbraune, am Rande mehr bräunlich-gelbe Farbe. Das Innere von ihnen ist konzentrisch gezeichnet. Der Rand erscheint ganz glatt.

Die für das unbewaffnete Auge als horizontal ausgebreitete Scheiben sich darstellenden Tiefenkolonieen sind im Gegensatz zu den oben beschriebenen nur schwach gelblich gefärbt und besitzen einen ganz farblosen, nur bei starker Abblendung sichtbaren, feingezähnten Rand. Die innere Zeichnung ist strahlig. In älteren Kulturen ist das Aussehen dieser Tiefenkolonieen dem der jüngsten ziemlich gleich, nur tritt auch hier, wie bei den anders geformten, in der Tiefe des Substrats liegenden Kolonieen eine konzentrische Schichtung auf.

Agarstrich.

1) Temperatur 20° C.

24 Stunden nach dem Impfen tritt uns der Strich als ein grauweißer, fast saftig glänzender, kräftig entwickelter, glattrandiger Belag entgegen,

dessen Konsistenz butterartig weich ist. Später erscheint die Kultur grauweiß oder fast milchweiß, saftig glänzend.

2) Temperatur 37° C.

Die 24-stündige Strichkultur gleicht der bei 20° gezüchteten, ist aber bedeutend kräftiger entwickelt, breiter und etwas erhabener. Der Belag ist im Vergleich mit 1) mehr grau. Die Randpartie besitzt schwache Ausbuchtungen.

Ein 10-tägiger Strich ist grauweiß und unterscheidet sich von dem bei Zimmertemperatur gehaltenen dadurch, daß der Rand etwas erhaben erscheint, mit anderen Worten einen Wall um den mittleren Teil des Belages bildet. Der Saum ist nicht wie die zentrale Partie des Striches mit einer glatten Oberfläche versehen, sondern hat ein höckeriges Aussehen. Der ganze Belag ist saftig glänzend, der Rand desselben ausgebuchtet und durch das Vorhandensein kleinerer Lappen ausgezeichnet.

Agarstich. Temp. 37°.

Eine 24-stündige Kultur hat Nagelgestalt. Der Oberflächenbelag gleicht einer Oberflächenkolonie der Agarplatten. Das Wachstum ist kräftig im ganzen Stichkanal, entbehrt aber jeden Charakters.

Nach 5 Tagen tritt eine deutliche, konzentrische Schichtung im Belag auf.

Molkenagarstich. Temp. 20 bezw. 37° C.

Sowohl die bei 20° C wie die bei 37° C gezüchteten Kulturen zeigen nach 24 Stunden gute Entwickelung nicht nur im Stich, sondern auch auf der Oberfläche der Substratsäule.

Nach 5 Tagen ist der Oberflächenbelag milchweiß oder schwach gelblich-weiß. Das Molkenagar wird in der Umgebung der Kultur allmählich getrübt.

Molke.

1) Temperatur 20° C.

Nach 24 Stunden recht kräftig trübe; ein ganz geringer, sandiger Bodensatz entstanden. Nach 8 Tagen ist die Trübung sowie der Bodensatz sehr stark. Auf dem Substrat hat sich eine weiße, metallisch glänzende Haut gebildet, die beim Schütteln in kleinen Brocken zerfällt.

2) Temperatur 37° C.

Die Kultur entwickelt sich bei Bruttemperatur ungefähr in der gleichen Weise wie 1), nur ist die Trübung und die Bodensatzbildung bedeutend geringer. Die Haut tritt hier später auf als bei 1).

Peptonmolke. Temp. 20 bezw. 37° C.

Das Wachstum der Bakterie ist in diesem Substrat gleich dem der Molkenkulturen. Wie bei der in der Folge beschriebenen Bouillonkultur kommt es auch hier nicht zur Bildung einer Haut.

Bouillon. Temp. 20 bezw. 37°.

Sowohl in den bei 20° wie in den bei 37° gezüchteten Kulturen tritt starke Trübung und Bildung eines sandigen Bodensatzes ein. Der Bodensatz ist in den bei Bruttemperatur gehaltenen Kulturen bedeutend größer als in denjenigen, die bei niedrigerer Temperatur gewachsen sind.

Eine Haut wird niemals gebildet. Es entsteht nur ein weißer Ring an der Glaswand in der Höhe der Substratoberfläche.

Milch.

1) Temperatur 20° C.

Erst nach 3 Tagen gerinnt die Milch weich und labähnlich. Gleichzeitig zeigt sich die oberste Schicht der Milch schwach peptonisiert, bräunlich-grau. Die Peptonisierung der Milch schreitet allmählich weiter. Am 8. Tage ist etwa ein Drittel des ausgefällten Kaseins aufgelöst. Die bei der Koagulation der Milch amphotere Reaktion hat zu dieser Zeit einer stark alkalischen Platz gemacht. Die 3 Wochen alte Kultur ist schmutzig-gelb, stark schleimig und besitzt einen schwach fauligen, gleichzeitig auch an Nußkern erinnernden Geruch. Das Kasein ist vollständig gelöst. Die Flüssigkeit reagiert stark alkalisch.

Gasbildung wurde in den Milchkulturen ebensowenig wie in den anderen Kulturen des Bactridium lipolyticum beobachtet.

2) Temperatur 37° C.

Innerhalb 24 Stunden zu einem recht festen Koagulum ohne Serumausscheidung oder Gasentwickelung geronnen. Die Reaktion der Kultur ist amphoter. Das Kasein wird wie bei 1) bei alkalischer Reaktion peptonisiert. Der Geschmack einer 3-tägigen Kultur ist kräftig bitter.

Kartoffelstrich.

1) Temperatur 20° C.

Nach 24 Stunden ist ein schmaler, erhabener, fettglänzender, kartoffelfarbiger Belag entstanden. Der Strich entwickelt sich rasch und kräftig, wird immer erhabener; mit der Zeit bekommt er eine saftig glänzende Oberfläche. Die Farbe der Kultur ist schmalzähnlich, gelblichweiß. Am 10. Tage ist fast die ganze Kartoffelfläche von dem besonders nach dem Zentrum zu stark erhabenen Belag überzogen, dessen Konsistenz auf diesem Stadium schmierig, butterähnlich ist.

2) Temperatur 37° C.

Nach 24 Stunden ein breiter, schmalzfarbiger, erhabener, am Rande etwas ausgebuchteter Belagstreifen. In der Folge entwickelt sich die Kultur wie der bei 20° gehaltene Strich, nur verschwindet hier das erhabene Aussehen. Die Kultur ist fast flach ausgebreitet und besitzt eine saftig glänzende Oberfläche.

Stoffwechselprodukte.

Bactridium lipolyticum bildet geringe Mengen Indol, es reduziert Methylenblau in Bouillonkultur in kurzer Zeit und baut Kaliumnitrat zu Nitrit (Spuren) ab. Schwefelwasserstoffbildung wurde nicht beobachtet (Bouillonkulturen mit Bleiacetatpapier und Stichkulturen in mit Ferrum tartaricum oxydatum versetzter Gelatine).

Außerdem vergärt die Bakterie gewisse Alkohole und Kohlehydrate unter Säurebildung. Ich gebe hier unten eine kurze Beschreibung der Versuche, die angestellt wurden, um den Einfluß des Bactridium lipolyticum auf höhere Alkohole und Zuckerarten festzustellen.

Das Verhalten des Bactridium lipolyticum gegenüber mehratomigen Alkoholen und Kohlehydraten.

Auf ihre Fähigkeit, aus Alkoholen bezw. Zuckerarten Säure zu bilden, wurde die Bakterie in Peptonwasserkulturen geprüft, die 1 Proz. von der zu vergärenden Substanz enthielten. Das Peptonwasser hatte folgende Zusammensetzung. Knopsche Nährlösung 100, Pepton 1.

100 ccm dieses mit den verschiedenen Alkoholen resp. Zuckerarten versetzten Substrates wurde mit einer vollen Oese einer 24 Stunden bei 37° C gehaltenen Bouillonkultur des Bactr. lipolyticum geimpft. Nach drei Tagen Stehen bei 37° C wurden 50 ccm der auf 100 ccm aufgefüllten Kulturen mit $\frac{N}{4}$NaOH titriert. Indikator: Phenolphtalein.

Ergebnis der Titrierung:

50 ccm Peptonwasser (steril)		verlangten	1,10 ccm $\frac{N}{4}$ NaOH
50 „ „ + Bactr. lipolyt.		„	0,70 „ „ „
50 „ „ + 1 Proz. Glycerin	+ Bactr. lipolyt.	„	2,80 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Mannit	+ „ „	„	2,85 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Dextrose	+ „ „	„	3,30 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Saccharose	+ „ „	„	2,95 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Laktose	+ „ „	„	0,75 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Raffinose	+ „ „	„	1,80 „ „ „
50 „ „ + 1 „ Xylose	+ „ „	„	2,70 „ „ „

In der Laktose enthaltenden Kultur hat sich der Titer nach diesen 3 Tagen in genau derselben Weise verändert wie in der zuckerfreien Kultur. Die Zunahme der Alkalität ist in beiden Kulturen gleich groß. Der Milchzucker wird also nicht vergoren, dagegen vergärt das Bactridium lipolyticum alle anderen daraufhin untersuchten Alkohole und Zuckerarten.

Wie der Titel dieser Mitteilung besagt, ist das Bactridium lipolyticum eine fettspaltende Bakterie. Der Nachweis der Lipasen und ihre zersetzende Wirkung auf das Butterfett wird im folgenden behandelt.

Nachweis der Lipasen.

Um den Beweis zu erbringen, daß die in Frage stehende Bakterie fettspaltende lipolytische Enzyme ausscheidet, benutzte ich die von Eijkman[1]) empfohlene Diffusionsmethode. Der Boden einer Petri-Schale wurde zu diesem Zweck mit einer ganz dünnen Schicht Rindertalg überzogen. Nach dem Erstarren des Fettes wurde eine etwa 2 mm dicke Agarscheibe darauf gelegt und das Agar mit einer Agarkultur des Bactridium lipolyticum geimpft. Nach 20 Stunden Stehen bei 37° C zeigte sich die Talgschicht gerade unter dem T-förmigen Bakterienstrich ganz weiß, fast undurchsichtig. Der übrige Teil der Fettschicht hatte keine Veränderungen aufzuweisen. Die durch das Agar diffundierenden Lipasen machen den Talg brüchig und feucht; der Talg haftet nicht mehr an dem Schalenboden, sondern bleibt an dem Agar hängen, wenn man die Schicht aufhebt. Das von dem Enzym nicht angegriffene Fett haftet dagegen fest am Glase. Alle diese Veränderungen konnte auch Eijkman bei seinen Versuchen beobachten. Nach Eijkman beruht diese Veränderung des Talges auf einer Verseifung desselben.

1) Eijkman, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. p. 841.)

„In erster Linie wird Kalkseife gebildet, später, wenn der Kalkvorrat erschöpft ist, auch Natron- und schließlich auch Ammoniakseife. Es entsteht somit ein Produkt, das große Aehnlichkeit hat mit dem sogenannten Leichenwachs oder Adipocire.“

Unter dem Mikroskope, bei 130-facher Vergrößerung betrachtet, zeigt das von den Lipasen angegriffene Talgfett nach meinen Beobachtungen eine ganz andere strukturelle Beschaffenheit und Farbe wie der unveränderte Talg. Während die kleinen Partikelchen des letzteren eine nur schwach gelbliche Färbung und keine ausgesprochene Form besitzen, erscheinen diejenigen des zersetzten Fettes mehr bräunlich und meistens abgerundet sternförmig. Außerdem ist der Unterschied vorhanden, daß das verseifte Fett sehr reich ist an zwischen den bräunlichen, sternförmigen Klümpchen liegenden, breiteren und schmäleren, langen Kristallnadeln, die kleinere oder größere Büschel bilden. Diese Kristalle sind in Wasser und Aether unlöslich, in konzentrierter Schwefelsäure vollständig löslich. Weitere Untersuchungen über dieselben wurden nicht angestellt.

Die Wirkung der Lipasen auf das Milchfett geht aus den hier folgenden Versuchen hervor. Das Studium der vom Bactridium lipolyticum in Milch und Rahm erzeugten Zersetzungsprodukte hat Herr F. M. Berberich, Kiel, übernommen.

Die Einwirkung des Bactridium lipolyticum auf Rahm.

Wie in der Einleitung dieser Arbeit erwähnt wurde, tritt der fehlerhafte Geschmack der Milchprodukte des betreffenden Gutes besonders stark in dem Rahm hervor, welcher schon nach einigen Stunden abfällig, ranzig schmeckt. Es war deshalb von Wichtigkeit, die Art der Einwirkung der einzelnen in den Milchproben gefundenen Mikroorganismen auf Rahm festzustellen. Die außer dem Bactridium lipolyticum aus der Milz isolierten Mikroben riefen bei diesen Versuchen keinen ranzigen Geschmack in dem Rahm hervor. Dagegen besaßen alle Rahmkulturen des Bactridium lipolyticum einen ranzigen Geschmack.

Im folgenden sind die Resultate der Versuche mit dieser Bakterie aufgestellt. Dieselbe wird mit ihrer Nummer in der Kieler Sammlung, 646, bezeichnet. Außer dem Bactridium lipolyticum wurde eine „Form“ des Bacterium Güntheri Lehm. et Neum. für diese Versuche benutzt.

Versuch I.

Der Versuch wurde mit bei 88—90° C pasteurisiertem Rahm in sterilen Kolben ausgeführt.

1) Pasteurisierter Rahm ohne 646 (48 Stunden bei 37° C): Geruch angenehm säuerlich; Geschmack aromatisch sauer.

2) Pasteurisierter Rahm + 646 (48 Stunden bei 37° C): Geruch schwach sauer, ranzig; Geschmack säuerlich, ranzig, nicht bitter.

Versuch II.

Versuch mit (bei 121° C 10 Minuten) sterilisiertem Rahm angestellt.

1) Steriler Rahm (48 Stunden bei 37° C): Geruch nach gekochtem Rahm; Geschmack rein.

2) Steriler Rahm + 646 (48 Stunden bei 37° C): Schwach ranziger Geruch; Geschmack ranzig und bitter.

3) Steriler Rahm + 646 + Bacterium Güntheri (48 Stunden bei 37° C):

Das Bacterium Güntheri wurde als Milchkultur in einer Menge von etwa 5 Proz. zugesetzt, das Bactridium lipolyticum als Kartoffelkultur, eine Oese auf 100 ccm Rahm.

Geruch rein sauer, etwas nach Malz (das Aroma ist demjenigen einer Milchkultur der benutzten Milchsäure ganz gleich). Geschmack rein sauer. Kein bitterer und kein ranziger Geschmack.

Aun diesen Versuchen geht unzweideutig hervor, daß das Bactridium lipolyticum als Ursache der fehlerhaften Beschaffenheit der Milch bezw. des Rahmes anzusehen ist. Dasselbe gedeiht gut neben den Milchsäurebakterien bis zu einem gewissen Grade der Säurebildung, wird aber später durch die in immer reichlicheren Mengen auftretende Milchsäure abgetötet bezw. zurückgedrängt. Wenn die Bakterie alleinherrschend ihre physiologische Tätigkeit entfalten darf, übt sie einen für den Geschmack leicht erkennbaren zersetzenden Einfluß sowohl auf das Fett wie auch auf die Eiweißstoffe aus. Der Geschmack des Rahmes wird ranzig und bitter. Tritt sie dagegen in der Gesellschaft von ihr anfangs in der Zahl unterlegenen Milchsäurebakterien auf, verhindern diese zwar durch ihre Milchsäureproduktion die Bildung bezw. Wirksamkeit eines proteolytischen Enzyms, sind aber, solange sie nicht größere Mengen Milchsäure gebildet haben, ohne Einfluß auf die zersetzende Wirkung der Lipasen des Bactridium lipolyticum. Der Rahm riecht und schmeckt dann säuerlich ranzig, aber nicht bitter. Das Resultat der bakteriologischen und organoleptischen Prüfung der beiden zur Untersuchung eingesandten Milchproben spricht auch dafür, daß die physiologische Wirkung des Bactridium lipolyticum in Milch in die oben geschilderte Richtung geht. Anfangs war hier die Bakterie in beiden Flaschen in überwiegender Zahl zugegen. Bei der Probe a, die bei einer Temperatur aufbewahrt wurde, welche scheinbar noch günstig für die fettzersetzende Wirkung des Bacterium lipolyticum war, die aber die Wirksamkeit der milchzuckervergärenden Enzyme lahmlegte, konnte ein deutlich ranziger, aber kein merkbar säuerlicher Geschmack wahrgenommen werden. Die Probe b schmeckte dagegen sowohl säuerlich wie ranzig. Hier hatte das Bactridium lipolyticum zuerst Ueberhand, konnte also eine Zeitlang das Milchfett spalten, wurde aber bald von den Milchsäurebakterien, deren Enzyme bei der Zimmertemperatur ihre zuckervergärenden Eigenschaften vorzüglich entfalten konnten, überwuchert und durch die sich immer mehr anhäufende Milchsäure schließlich zum größten Teil vernichtet. Bei der bakteriologischen Untersuchung der Probe b kamen ja auch nur vereinzelte Kolonieen des Bactridium lipolyticum zur Entwickelung. Haben schließlich die Milchsäurebakterien von Anfang an die Ueberhand, wie im Versuch II, 3, dann kommt die Bakterie 646 gar nicht zu ihrem Recht, sie stirbt in dem säurehaltigen Substrat aus.

Dem Besitzer der Kühe wurde auf Grund der Ergebnisse dieser Versuche der Rat erteilt, falls ein Pasteurisierungsapparat auf seinem Gute nicht vorhanden sei, die Milch gleich nach dem Melken mit Reinkulturen von Milchsäurebakterien zu säuern, um hierdurch die den Fehler hervorrufende Bakterie zu vernichten bezw. die Tätigkeit desselben auf ein Minimum herabzusetzen.

Ob dem Bactridium lipolyticum pathogene Eigenschaften zu-

kommen, habe ich nicht nachgeprüft. Ich erwähne hier nur, daß Sommaruga[1]) in seiner Arbeit über Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen zu dem Schluß kommt, daß alle diejenigen Mikroben, welche Fett spalten, entweder für den Menschen oder wenigstens für das Tier pathogen sind.

Auf Grund der vorstehenden Untersuchungen über Bactridium lipolyticum lassen sich folgende Hauptmerkmale der Bakterie aufstellen:

1) Peritrich begeißeltes Stäbchen.
2) Bildung eines labähnlichen Enzyms.
3) Bildung eines proteolytischen Enzyms.
4) Bildung eines lipolytischen Enzyms.
5) Bildung zuckervergärender Enzyme (Milchzucker wird nicht vergoren!).

Stockholm, im Dezember 1907.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Nitrifikation.

[Aus dem landwirtschaftlich bakteriologischen Institut der Universität Göttingen.]

Von **Leslie C. Coleman.**

(Schluß.)

Versuche mit dem Nitratbildner in Sandkulturen.

Versuch I.

Da meine früheren Versuche schon gezeigt hatten, daß der Feuchtigkeitsgrad großen Einfluß auf die Wirkung der Dextrose im Boden ausübt, suchte ich diese Verhältnisse in folgendem Versuche nachzuahmen. Ich bereitete Kolben mit zwei verschiedenen Mengen Sand, 400 g und 150 g. Jeder Kolben bekam weiter 50 ccm Nitritnährlösung, wozu noch in einer Reihe 0,2 Proz. Dextrose (auf die Flüssigkeit berechnet) hinzukam. Andere Kolben wurden mit Nährlösung ohne Sand mit und ohne Dextrose bereitet. Nach dreimaligem Sterilisieren bei 100° eine halbe Stunde lang impfte ich jeden Kolben mit 2 ccm einer Nitratbildnerkultur, die vorher durch Ueberimpfung in Bouillon als rein gefunden wurde. Nach 12-tägigem Stehen im Brutzimmer bei 25° wurden die Kulturen auf Nitrat analysiert. Wie in den oben geschilderten Versuchen, wurden die Kolben auf ihr ursprüngliches Gewicht gebracht; dann wurde durch weiteren Zusatz von Wasser die Gesamtflüssigkeit auf 300 ccm ergänzt. Nach dem Ausziehen und Abfiltrieren

1) Sommaruga, E. von, Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894.)

wurden Proben von 75 ccm (in wenigen Fällen von 50 ccm) analysiert. Auch prüfte ich die Auszüge auf Zucker.

In allen Dextrosekulturen war der Zucker noch vorhanden, doch schien er in den mit 400 g Sand versehenen Kolben in etwas kleinerer Menge vorhanden zu sein als in den ungeimpften Kolben. Die gefundenen Mengen Nitrit- bezw. Nitratstickstoff in den drei Reihen sind in folgender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle XII (Analytische Belege Analyse 20).

	1. Reihe 400 g Sand + 50 ccm Nährlösung			2. Reihe 150 g Sand + 50 ccm Nährlösung			3. Reihe 50 ccm Nährlösung		
	Nitrit-N	Nitrat-N	zus.	Nitrit-N	Nitrat-N	zus.	Nitrit-N	Nitrat-N	zus.
	in mg			in mg			in mg		
	in der ganzen Kultur			in der ganzen Kultur			in der ganzen Kultur		
1. Kontrolle	0	38,85	38,85	30,30	8,70	39,00	33,90	4,99	38,89
2. „	10,95	27,78	38,73	31,26	8,34	39,60	—	—	—
3. „	8,40	32,28	40,68	—	—	—	—	—	—
1. N. + 0,2 Proz. D.	2,78	37,86	40,64	29,52	5,79	35,31	30,32	4,12	34,44
2. N. + 0,2 „ „	2,27	34,86	37,13	31,14	6,30	37,44	—	—	—

Aus diesen Resultaten ersieht man einen erstaunlichen Unterschied in den gebildeten Nitratmengen in den drei Reihen. Ja man kann wohl daran zweifeln, ob in den Nährlösungen ohne Sand, besonders in der mit 0,2 Proz. Dextrose überhaupt Nitrat gebildet worden ist, da das benutzte Nitrit schon kleine Mengen Nitrat enthielt. Aus der ersten Reihe ist kaum zu ersehen, ob die Dextrose eine begünstigende Wirkung hatte, oder nicht. Wenn wir die erste Analyse als abweichend und auf eine bei der Impfung eingeführte größere Menge der Bakterien znrückführbar betrachten, dann könnten wir vielleicht eine schwache Wirkung bemerken. Das kleinere Gesamtergebnis bei dem letzten Dextrosekolben führe ich auf einen Verlust im Nitrit bei der Analyse zurück, was bei dieser Methode leicht vorkommen kann.

Obgleich in der zweiten Reihe sehr wenig Nitrat gebildet wurde, kann man doch eine schädliche Wirkung der Dextrose erkennen. Dies ist verständlich, weil in dieser Reihe die Bedingungen sich jener einer Flüssigkeitskultur näherten, denn die Flüssigkeit wurde von dem Sand nicht ganz absorbiert. In den beiden ersten Reihen wurde der Sand nicht durch Schütteln gelockert.

In der dritten Reihe ist überhaupt so wenig Nitrat gebildet worden, daß die hemmende Wirkung der Dextrose kaum hervortritt. Aus dem ganzen Versuche können wir mit ziemlicher Sicherheit schließen: Zuerst, daß in Reinkulturen eine Herabsetzung der Luftzufuhr bei der Nitratbildung, sowie bei der Wirkung der Dextrose eine sehr große Rolle spielt. Im großen ganzen bestätigen diese Resultate diejenigen, die ich in meinem oben geschilderten Versuche mit Erde bekam. Wenn wir den Feuchtigkeitsgehalt des mit Lösung durchtränkten Sandes in den ersten beiden Reihen betrachten, finden wir bei der ersten ca. 12 Proz., bei der zweiten ca. 20 Proz. (hier war er schon etwas über dem

Maximum). Da, wie bekannt, die Absorptionsfähigkeit des Sandes eine viel geringere als die des Bodens ist, so dürften die beiden Reihen eine gewisse Aehnlichkeit mit den auf p. 11 angeführten zwei letzten Reihen besitzen. Doch wie in einem vierten auf p. 24 angeführten Versuche klar zu ersehen ist, spielt hierbei nicht der Wassergehalt an sich, sondern die schlechte bezw. gute Luftzufuhr die wichtige Rolle.

Ein zweiter Versuch wurde mit 300 g Sand und 50 ccm Nährlösung pro Kolben angestellt. Die Dextrosezugaben betrugen 0,05, 0,2, 0,5 und 1,0 Proz. Zur selben Zeit wurden auch Flüssigkeitskulturen mit denselben Zugaben vorbereitet. Nach dreimaliger Sterilisation wurde jeder Kolben mit 2 ccm einer Nitratbildnerkultur geimpft. Nach 10 Tagen analysierte ich einige Kulturen und gelangte zu folgenden Ergebnissen:

Tabelle XIII (Analytische Belege Analyse 21).

	Sandkulturen		Flüssigkeitskulturen	
	Nitrit-N in mg in der ganzen Kultur	Nitrat-N in mg in der ganzen Kultur	Nitrit-N in mg in der ganzen Kultur	Nitrat-N in mg in der ganzen Kultur
Kontrolle	verschwunden	37,44	13,68	24,56
0,05 Proz. Dextrose	„	37,68	18,96	17,68
0,2 „ „	20,96	14,64	keine Nitratreaktion	
0,5 „ „	keine Nitratreaktion		„	„
1,0 „ „	„	„	„	„

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, war die Nitratbildung schon zu weit vorgeschritten, um einen Unterschied zwischen dem Kontroll- und dem mit 0,05 Proz. Dextrose versehenen Kolben der Sandkulturen feststellen zu lassen. Doch sind die Resultate ganz interessant, indem sie den großen Unterschied der Dextrosewirkung in Sand- und Flüssigkeitskulturen zeigen. Während in der Flüssigkeitskultur mit 0,2 Proz. Dextrose absolut keine Spur von Nitrat gebildet worden war, war in der entsprechenden Sandkultur schon fast die Hälfte des Nitrits oxydiert. Auch gemäß den Befunden Winogradskys und Omelianskis zeigte schon 0,05 Proz. Dextrose in Flüssigkeitskultur eine ganz bedeutend hemmende Wirkung, in Sandkultur dagegen durchaus nicht. In beiden Reihen scheint eine Zugabe von 0,5 Proz. Dextrose die Nitratation völlig unterdrückt zu haben. Was den Zucker betrifft, so war er bei den Zugaben von 1,0 Proz. Dextrose und 0,5 Proz. Dextrose noch vollständig vorhanden; bei Zugabe von 0,2 Proz. Dextrose schien er selbst in Sand auch vollständig vorhanden zu sein. Aber bei Zugabe von 0,05 Proz. war der Zucker in der Flüssigkeitskultur sowohl wie im Sand ganz verschwunden. Dieses spricht sehr deutlich für die Ansicht, daß die Dextrose tatsächlich von dem Nitratbildner selbst verbraucht worden war; sonst hätten wir sein Verschwinden in den Kulturen der letztbesprochenen Reihe (mit 0,5 und 1,0 Proz. Dextrose), wo der Nitratbildner nicht gewachsen war (Kulturen ohne Nitratreaktion — siehe Tabelle XIII), erwarten müssen. Doch scheint sein Verbrauch bei einer Konzentration von 0,2 Proz. sehr langsam vor sich zu gehen.

Es blieben noch von diesem Versuche einige Kolben übrig. Ich setzte diesen mittels steriler Pipette frische sterile KNO_2-Lösung zu, und zwar 250 mg zu jedem Kolben. Nach 4 Tagen war in den Kontroll- und 0,05 Proz. Dextrosekolben das Nitrit wieder verschwunden. Diesen beiden wurde wieder sterile KNO_2-Lösung zugesetzt. Nach weiteren 2 Tagen wurden die Kolben einer Nitratanalyse unterworfen. Daraus ergaben sich die folgenden Zahlen:

Tabelle XIV (Analytische Belege Analyse 22).

	Nitrit-N in mg pro Kolben	Nitrat-N in mg pro Kolben
Kontrolle	32,12	155,84
0,05 Proz. Dextrose	28,44	160,60
0,5 „ „	43,00	5,88

Während dieses Abschnittes des Versuchs hatte ich keine Flüssigkeitskulturen. Um über die angeführten Zahlen ein richtiges Urteil zu fällen, darf man nicht vergessen, daß der Unterschied zwischen dem Nitrate im Kontroll- und 0,05 Proz. Dextrosekolben nur in den letzten 2 Tagen entstanden ist, da vorher das ganze vorhandene Nitrit schon oxydiert worden war. Obgleich der Unterschied ziemlich gering ist, dürfte er doch genügend sein, um zu zeigen, daß selbst einige Tage nach dem Verschwinden der Dextrose ihre Wirkung noch fortdauerte. Diese Resultate stehen mit den für sterile Erde erhaltenen im Einklang. Es braucht nicht erwähnt zu werden, daß die Resultate nur für diejenigen Kolben, die beim Ueberimpfen in Bouillon kein Wachstum ergaben, angeführt werden.

Die nächsten 2 Versuche wurden mit den gereinigten Kulturen gemacht, so daß man es hier sicherlich mit wirklichen Reinkulturen zu tun hat. Bei dem ersten Versuche wurde 0,05 Proz. Dextrose zugesetzt. In anderen Beziehungen gleicht der Versuch den vorigen. Als Kontrollen für mikroskopische Untersuchung waren zu gleicher Zeit mit den Sandkulturen Flüssigkeitskulturen mit und ohne Dextrose angesetzt. Diese wurden am Ende des Versuchs sorgfältig untersucht und zeigten nur den Nitratbildner. Insbesondere war der früher als Verunreinigung gefundene Micrococcus diesmal sicherlich nicht vorhanden. Ueberimpfung in Bouillon bezw. auf Heyden-Agar ergaben kein Wachstum. Die Impfmenge war in jedem Falle 4 ccm einer Nitratbildnerkultur. Die Kulturen wurden nach 5 Tagen mit folgenden Resultaten analysiert:

Tabelle XV (Analytische Belege Analyse 23).

	Nitrit-N in mg pro Kolben	Nitrat-N in mg pro Kolben	Zusammen
1. Kontrolle	12,06	21,96	34,02
2. „	12,04	24,12	36,16
3. „	3,70	31,72	35,42
4. 0,05 Proz. Dextrose	10,62	23,55	34,17
5. 0,05 „ „	17,34	18,56	35,90
6. 0,05 „ „	verschwunden	36,30	36,30

Nach diesen Resultaten haben die Bakterien in den verschiedenen Kulturen in ihrer Tätigkeit sehr stark variiert, weshalb, ist kaum zu ersehen. Infolgedessen ist es hier unmöglich, zu sagen, ob die Dextrose fördernd gewirkt hat oder nicht. Besonders wichtig aber ist es, zu erwähnen, daß in jedem Falle die Dextrose ganz verschwunden war.

Im folgenden Versuche variierte ich, um den Einfluß des Feuchtigkeitsgrades wieder zu prüfen, die Menge des Sandes. Einige Kolben erhielten 400 g, andere 250 g Sand. In jedem Falle erhielten sie 50 ccm einer Nitritnährlösung. Zucker wurde in Konzentrationen von 0,02 Proz. und 0,2 Proz. angewandt. Nach der Impfung mit 2 ccm einer Reinkultur des Nitratbildners wurde, wie in dem letztangeführten Versuche, durch Schütteln eine möglichst vollständige Lockerung des Sandes hergestellt. Nach 8 Tagen wurden die sämtlichen Kolben auf Nitrit und Nitrat untersucht mit folgenden Resultaten:

Tabelle XVI (Analytische Belege Analyse 24).

	Nitrit-N in mg	Nitrat-N in mg pro Kolben	Zusammen
400 g Sand			
1. Kontrolle	10,78	22,24	33,02
2. 0,02 Proz. Dextrose	3,65	26,58	30,23
3. 0,02 „ „	6,50	28,48	34,98
4. 0,2 „ „	21,88	10,88	31,76
5. 0,2 „ „	9,74	24,16	34,00
250 g Sand			
1. Kontrolle	3,98	26,62	30,34
2. „	9,18	21,22	30,30
3. 0,02 Proz. Dextrose	verschwunden	35,12	35,12
4. 0,02 „ „	6,24	26,14	32,38

Obgleich hier auch die Nitratation sehr unregelmäßig vor sich gegangen ist, scheint es doch ziemlich klar zu sein, daß die Dextrose hier bei einer Konzentration von 0,02 Proz., besonders bei 250 g Sand eine fördernde Wirkung gehabt hat. Es muß hinzugefügt werden, daß hier die Dextrose auch verschwunden war, während bei einer Konzentration von 0,2 Proz. etwas nachblieb. Die Konzentration von 0,2 Proz. scheint etwas hemmend gewirkt zu haben. Was den Einfluß der Sandmenge betrifft, so sehen wir so gut wie gar keinen Unterschied. Ja, die kleinere Menge Sand scheint vorteilhaft gewesen zu sein. Sicherlich hat die Auflockerung des Sandes irgend einen Einfluß des kleinen Unterschiedes im Feuchtigkeitsgrade aufgehoben.

VI. Versuche mit dem Nitritbildner.

Für diese Versuche wurden Nachkömmlinge der Petersburger Kultur benutzt. Da, wie oben erwähnt wurde, einige später untersuchte Kulturen derselben Abstammung eine Verunreinigung erwiesen, die so schlecht in Bouillon wuchs, daß die Bouillon selbst noch mehrere Wochen ganz klar blieb, waren die hier benutzten Kulturen wahrscheinlich nicht ganz rein. Deshalb können die folgenden Versuche keinen sicheren Aufschluß darüber geben, ob der Nitritbildner Dextrose in schwacher Konzentration zu verbrauchen vermag. Da aber die Versuche einen Vergleich zwischen den Vorgängen in Sand- und Flüssigkeitskulturen bieten, dürften sie doch ihre Wichtigkeit haben. In den beiden angeführten Versuchen enthielten die Sandkolben 300 g Sand von 50 ccm Ammoniaknährlösung durchtränkt. Diese Nährlösung wurde nach den Vorschriften von Omelianski hergestellt, und zwar das Ammoniumsulfat in einer Konzentration von 0,5 Proz., anstatt 0,2 Proz. Jeder Kolben, ebenso die mit Flüssigkeit wie die mit Sand, bekamen auch 1,4 g Magnesiumkarbonat, das in dem Sand durch Schütteln gleichmäßig verteilt wurde.

Dem ersten Kolben gab ich Dextrose in Konzentrationen von 0,02 Proz. bezw. 0,2 Proz. (auf die Flüssigkeitsmenge berechnet) zu. Nach dreimaligem Sterilisieren eine halbe Stunde auf 100° wurden die Kolben mit je 1 ccm der genannten Nitritkultur geimpft. Analysen wurden nach 13, 20 und 34 Tagen gemacht. Doch blieben die zuletzt untersuchten Kolben die letzten 5 Tage im Keller bei ca. 10° stehen. Das Nitrit wurde nach Verdrängung der Luft durch Kohlensäure mit Jodkalium und schwacher Salzsäure zersetzt und als Stickoxyd über Natronlauge aufgefangen. Die Ergebnisse findet man in folgender Tabelle:

Tabelle XVII (Analytische Belege Analysen 25—28).

		50 ccm Nährlösung in 300 g Sand	50 ccm Nährlösung
		Nitritstickstoff in mg pro Kolben	Nitritstickstoff in mg pro Kolben
Nach 13 Tagen	Kontrolle	6,19	4,55
	N+0,02 Proz. Dextrose	2,57	1,57
	N+0,2 „ „	keine Reaktion	keine Reaktion
Nach 20 Tagen	1. Kontrolle	23,86	3,78
	2. „	25,39	3,78
	1. N+0,02 Proz. Dextrose	31,06	1,47
	2. N+0,02 „ „	30,66	1,63
	1. N+0,2 „ „	1,72	keine Reaktion
	2. N+0,2 „ „	5,84	„ „
Nach 34 Tagen	Kontrolle	36,82	10,64
	N+0,02 Proz. Dextrose	39,82 (Amm. verschw.)	3,02
	N+0, 2 „ „	—	keine Reaktion

Hier sehen wir in den Flüssigkeitskulturen (die überhaupt sehr langsam wuchsen) denen Winogradskys und Omelianskis ganz gleiche Resultate. Selbst nach 34 Tagen war keine Spur von Nitrit in den 0,2 Proz. Dextrose enthaltenden Kolben. Auch bei einer Zugabe von 0,02 Proz. Dextrose finden wir eine dauernde Verzögerung. Wenn wir uns den Sandkulturen zuwenden, so begegnen wir einem ganz anderen Bilde. Hier ging allerdings die ganze Nitritbildung viel schneller vor sich. Nach 13 Tagen finden wir denen der Flüssigkeitskulturen ähnliche Verhältnisse. Bei einer Konzentration von 0,02 Proz. Dextrose blieb die Nitritbildung sehr zurück. Bei einer Konzentration von 0,2 Proz. war keine Spur von Nitrit festzustellen. Nach 20 Tagen sind dagegen die 0,02 Proz. Dextrosekolben den Kontrollkolben erheblich überlegen. Hier stimmen auch die Resultate in den beiden Parallelreihen sehr gut miteinander überein. Auch finden wir bei der 0,2 Proz.-Dextrosezugabe die Anfänge einer Nitritbildung, die in einem Versuch viel weiter fortgeschritten ist wie im anderen. Nach 34 Tagen war in dem Sandkolben mit 0,02 Proz. Dextrose das Ammoniak ganz verschwunden. Deshalb tritt die begünstigende Wirkung des Zuckers nicht so deutlich hervor. Bei den Flüssigkeitskulturen wirkt die 0,02 Proz.-Dextrosezugabe immer noch sehr stark hemmend, während bei Zugabe von 0,2 Proz. die Nitritbildung noch völlig unterdrückt bleibt. Der Sandkolben mit 0,2 Dextrose ging durch Verunreinigung verloren.

Was das Verschwinden der Dextrose betrifft, so fand ich sie schon nach 20 Tagen bei sämtlichen Kulturen verschwunden, was mich auf eine Verunreinigung schließen ließ, obgleich die geimpfte Bouillon ohne jede Spur von Trübung blieb. Aber trotzdem bleiben die Resultate in ziemlich starkem Widerspruch mit der Annahme von Winogradsky und Omelianski, die Dextrose sei für den Nitritbildner ein starkes Gift. Wenn das der Fall wäre, müßte die Beschleunigung der Nitritbildung durch Dextrose auf einer Reizwirkung beruhen. Wie das auch sein mag, jedenfalls zeigen die Resultate, wie verschieden sich der Nitritbildner in Sandkulturen und in Lösungen verhält.

In einem zweiten Versuche, der um dieselbe Zeit angestellt wurde, benutzte ich nur Sandkulturen und brauchte Zucker in Konzentrationen von 0,05 Proz. bezw. 0,1 Proz. Das Bereiten der Nährlösungen und die Menge des Sandes waren dieselben, wie in dem soeben angeführten Ver-

suche. Eine Bestimmung des gebildeten Nitritstickstoffs wurde nach 13 Tagen gemacht Die folgenden Zahlen sind die ermittelten:

Tabelle XVIII (Analytische Belege Analyse 29).

	Nitritstickstoff in mg pro Kolben
Kontrolle	10,22
N+0,05 Proz. Dextrose	14,22
N+0,1 „ „	11,48

In den beiden Zuckerkolben war die Dextrose schon verschwunden.

Hier finden wir eine, doch nicht so ausgeprägte fördernde Wirkung.

Aus diesen Versuchen kann man nichts über die Frage schließen, ob der Nitritbildner überhaupt Dextrose zu verbrauchen vermag. Das kann erst mit einer mit Sicherheit reinen Kultur untersucht werden. Doch nach den oben angeführten, mit dem Nitratbildner gewonnenen Resultaten muß man das für wahrscheinlich halten. Wie dort, würde man hier zuerst eine hemmende Wirkung der Dextrose auf die Nitrifikation erwarten, die teilweise durch das Uebertragen der Bakterien aus einer an organischen Substanzen sehr armen Nährlösung bedingt wird. Auch scheint es mir möglich, daß eine durch Dextroseverbrauch erzeugte Energie bis zu einem gewissen Grade als Ersatz für die Ammoniakoxydation eine Ersparnis an dieser Oxydation erlauben dürfte. Dies alles aber bleibt noch zu untersuchen. Die spätere fördernde Wirkung könnte möglicherweise durch eine gewisse Kräftigung der Bakterien hervorgerufen sein, oder vielleicht noch wahrscheinlicher durch eine Reizwirkung der Dextrose.

VII. Die Kohlenstoffernährung des Nitratbildners.

Die Kohlenstoffernährung der nitrifizierenden Bakterien ist bisher verhältnismäßig wenig untersucht worden. Ueberdies beschränken sich die bis jetzt veröffentlichten Untersuchungen fast ausschließlich auf die Vorgänge beim Nitritbildner. Betreffs dieser Form hat Winogradsky den Beweis, daß sie ohne organischen Kohlenstoffernährung zu gedeihen vermag, erbracht. Weiter zeigte er, daß ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen der assimilierten Kohlensäure bezw. dem Kohlenstoff und dem oxydierten Ammoniakstickstoff existiert. Doch bleibt es nach seinen Untersuchungen noch unbekannt, woher der Nitritbildner seinen Kohlenstoff bezieht — ob aus der gebundenen Kohlensäure der Nährlösung oder aus der Kohlensäure der Luft. Elfving hat sich allerdings für die Wahrscheinlichkeit ausgesprochen, diese Form könnte ihren Kohlenstoffbedarf aus den flüchtigen organischen Substanzen der Luft decken.

Die Versuche Godlewskis, die mit unreinen Kulturen des Nitritbildners gemacht wurden, geben uns näheren Aufschluß über die dem Nitritbildner zur Verfügung stehenden Kohlenstoffquellen. Er züchtete diese Form in der anorganischen Nährlösung unter Glocken, die entweder durch a) Schwefelsäure, oder b) Kaliumpermanganat oder c) Kalilauge von der Außenluft abgeschlossen waren. Durch die Verschlüsse a und b wurde die Luft von flüchtigen organischen Substanzen — durch Verschluß c von Kohlensäure befreit. Er fand dabei, daß in a und b die Nitritation in ganz normaler Weise wie in den mit Watte verschlossenen, zur Kontrolle dienenden Kolben vor sich ging, während in c selbst nach Monaten gar keine Nitritation stattgefunden hatte.

In einer zweiten, in verschlossenen, mit Quecksilber gedichteten und mit Manometerröhren versehenen Kolben durchgeführten Versuchsreihe fand er bei Abschluß von Kohlensäure nur in den mit durch Quecksilber gedichteten Röhren versehenen Kolben eine normale Nitritation, nicht aber in denen mit Glasverschluß. Bei denjenigen, die eine Kohlensäurezugabe erhalten hatten, war natürlich die Nitritation auch eine normale. Die mit den mittels Manometerröhren verschlossenen Kolben erlangten abweichenden Resultate führte er auf eine durch Oxydation der Korke verursachte Bildung von Kohlensäure zurück. Winogradsky aber stimmt dieser Ansicht nicht zu, sondern sagt: „Da freie Kohlensäure bei dem Nitritationsprozeß unaufhörlich entsteht[1]), so müssen ganz unbedeutende Spuren davon genügen, um die wenigen eingeimpften Zellen zu ernähren, was ihnen dann erlauben wird, den Prozeß in Gang zu setzen. Wenn er einmal fortschreitet, so wird freie, bezw. halbgebundene Kohlensäure ja immer in Ueberschuß zur Verfügung stehen. In der Tat haben einige Versuche in meinem Laboratorium gezeigt, daß es einerseits nicht nötig ist, größere Mengen von Kohlensäure den Zuchten zuzuführen, daß von ihr die geringsten Spuren genügen, um eine Zucht zur Entwickelung zu bringen; andererseits kann sich auch der Prozeß normal abspielen, wenn man die Zuchten in kohlensäurefreier Atmosphäre hält, nur muß man sie dann sehr reichlich beimpfen, bezw. frisch beimpfte Kulturen einige Tage (bis 5) in freier Luft stehen lassen und dann erst unter eine Glocke mit Kalilauge stellen. In diesem Falle kann das Entziehen der Kohlensäure offenbar darum das Wachstum nicht zum Stillstand bringen, weil in der Lösung immer neue Mengen von Kohlensäure in dem Maße, als sie dem Nährboden entführt werden, neu entstehen.“

Nach den Versuchen Godlewskis steht so viel fest, daß eine Entwickelung des Nitritbildners ohne freie bezw. halbgebundene Kohlensäure nicht stattfinden kann.

Wenn wir uns jetzt dem Nitratbildner zuwenden, finden wir, daß keine ähnlichen Versuche in Bezug auf ihn gemacht worden sind. Nur haben Winogradsky und Omelianski konstatiert, daß erstens das Wachstum in kohlensäurefreier Luft nicht stattfindet und zweitens, daß die gleichzeitige Zugabe einer kohlensauren Base ebenso nötig ist. Als Base benutzten sie wasserfreie Soda. Gärtner fand dieselben Verhältnisse bei Benutzung von kohlensaurem Kalk. Darnach schreibt Winogradsky: „Man muß also daraus schließen, daß bei Anwesenheit von Monokarbonat allein gleichviel, ob löslich (Soda) oder unlöslich (Calciumkarbonat) wie auch bei Zuführung von Kohlensäure allein, keine Nitratation möglich ist, sondern daß diese erst bei Zuführung von kohlensäurehaltiger Luft und Zugabe einer kohlensauren Base vor sich gehen kann“ [2]). Winogradsky hält nach dem Verhalten des Nitratbildners gegenüber den üblichen organischen Nährböden, wie auch nach den negativen Resultaten Gärtners mit Glycerin anstatt Kohlensäure dafür, daß die Kohlensäure die einzige Quelle ist, aus welcher der Nitratbildner seinen Kohlenstoffbedarf decken kann.

---

1) Die Kohlensäureentwickelung wird natürlich durch die Bildung einer Säure (salpetrige Säure) und deren Neutralisation durch das Karbonat bedingt.

2) Winogradsky in Lafar, Tech. Myk. Bd. III. 1904. p. 173.

VIII. Die Assimilation des Kohlenstoffes bei dem Nitratbildner.

Die Versuche Winogradskys über die Assimilation des Kohlenstoffs bei den nitrifizierenden Bakterien wurden zu der Zeit gemacht, als er noch nicht die beiden Formen Nitrit- und Nitratbildner getrennt erhalten hatte. Da aber die Mengen des bei der Bestimmung des oxydierten Stickstoffs erhaltenen Nitrats im Vergleich zu der Menge des Nitrits sehr gering waren, dürfen wir die von ihm gewonnenen Zahlen als für den Nitritbildner geltend betrachten. Wie oben erwähnt, konstatierte er, daß Kohlenstoff aus CO_2 assimiliert wird, und daß ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen der assimilierten Menge C und der des oxydierten Ammoniaks existiert. Ein ähnlicher Versuch für den Nitratbildner bleibt noch zu machen.

Das Folgende soll nur als ein vorläufiger Versuch in dieser Richtung dienen, um festzustellen, ob beim Nitratbildner eine ähnliche Assimimilation der CO_2 wie beim Nitritbildner tatsächlich stattfindet.

Für meine Kulturen benutzte ich 8 Literflaschen mit breitem Boden, um bei Benutzung einer verhältnismäßig großen Menge Nährlösung die Flüssigkeitsschicht möglichst dünn zu halten und dadurch den Bakterien möglichst viel Luft zu bieten. In jede von 6 dieser Flaschen brachte ich 500 ccm einer Nitritnährlösung. Nach Sterilisation bei 120° wurden 5 Flaschen mit je 10 ccm einer gutwirkenden Kultur des Nitratbildners geimpft. Die 6. Flasche bekam 10 ccm einer aus derselben Gesamtmenge wie die der benutzten Impfkulturen stammende Nitritnährlösung, um das anfängliche Vorhandensein ganz gleicher Mengen organischer Substanz in den 6 Flaschen zu sichern. Die Flaschen wurden im Brutzimmer bei ca. 30° gehalten. Nach jedesmaligem Verschwinden des Nitrites in den Kulturen wurde diesen, wie auch der Kontrollflasche, gleiche Mengen einer sterilen Lösung von Kaliumnitrit zugesetzt. Ich hielt ein Abfiltrieren der angewachsenen Bakterien, wie Winogradsky es getan hat, für unnötig, ja sogar für eine Fehlerquelle, die vermieden werden sollte, da dadurch eine Verunreinigung stattfinden könnte. Die große Menge der Flüssigkeit erlaubte eine Oxydation ziemlich großer Mengen Nitrit, ohne daß dabei eine erheblich hemmende Wirkung des gebildeten Nitrats eintreten konnte.

Der Versuch dauerte ca. 3 Monate, doch da andere Arbeit dazwischen kam, blieben die Kulturen noch 2 Monate stehen, bis sie analysiert werden konnten. Ein paar Wochen vor der Analyse setzte ich noch 10 ccm einer 2,5-proz. KNO_2-Lösung 3 Flaschen zu. Die Kontrollflasche erhielt diese nicht, der darin enthaltene organische Kohlenstoff (die Lösung war nämlich aus chemisch reinem Kaliumnitrit in destilliertem Wasser hergestellt) war sicherlich unfaßbar klein, so daß dadurch kein Fehler entstehen konnte.

Bei der Bestimmung wurde die Menge der Flüssigkeit in jedem Falle auf ein Liter gebracht. Für die Bestimmung des Kohlenstoffs wurden 250 ccm (zwei Proben) genommen. Von der Kontrollflüssigkeit wurden aber Proben von 400 ccm genommen. Der Nitratstickstoff (Proben von 50 ccm, bezw. 75 ccm) wurde bis auf die letzte Flasche, die noch etwas Nitrit enthielt, nach der Schloesingschen Methode bestimmt. Für die Bestimmung in der letzten Flasche wandte ich die schon beschriebene Methode nach Meisenheimer und Heim an.

Um den Kohlenstoff zu bestimmen, benutzte ich eine von König[1])

1) König, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe.

beschriebene Methode, anstatt der von Winogradsky angewandten Methode nach Wolf, Degener und Herzfeld. Bei dieser letzten soll nach König die Gefahr eines Verlustes beim Eindampfen vorhanden sein, die bei seiner Methode vermieden wird. In der ersten Flasche bestimmte ich den organischen Kohlenstoff in der Lösung und in den Bakterien getrennt, aber da ich nach Vergleichsversuchen fand, daß eine gleichzeitige Bestimmung beider Kohlenstoffmengen eine noch kleinere Abweichung gab, bestimmte ich den Kohlenstoff in den letzten 3 geimpften Flaschen wie auch in der Kontrollflasche in Flüssigkeit und Bakterien zusammen. Zur vollständigen Absorption des Wassers und eventuell zerstörter salpetriger- bezw. Salpetersäure benutzte ich die von Winogradsky empfohlene Phenolschwefelsäure, zu welcher auch zwei Chlorcalciumröhren kamen. Die Resultate sind in folgender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle XIX (Analytische Belege Analysen 30 u. 31).

Kultur	Nitratstickstoff in mg pro Kultur	Kohlensäure in mg pro Kultur	Kohlensäure pro Kultur nach Abzug der am Anfang vorhandenen	Organ. Kohlenstoff pro Kultur vorhanden in mg
Kontrolle	—	21,25	—	—
1.	339,0	51,8	30,55	8,33
2.	361,2	42,0	20,75	5,66
3.	367,3	41,6	20,35	5,55
4.	318,8	47,00	25,75	7,19

Aus diesen Zahlen sieht man, daß, obgleich die Menge des assimilierten Kohlenstoffs ziemlich klein ist, sie doch weit über die Fehlergrenze hinausgeht. Was das Verhältnis zwischen oxydiertem Ammoniak und assimiliertem Kohlenstoff betrifft, so finden wir keine so gute Uebereinstimmung, wie bei den von Winogradsky erhaltenen Zahlen. Wenn wir aber die erste und die letzte Kultur nehmen, wo die größte Menge von organischem Kohlenstoff gefunden wurde, bekommen wir die folgenden Werte:

	1.	4.
Nitratstickstoff gebildet	339,0	318,8
Kohlenstoff assimiliert	8,33	7,19
Verhältnis	40,7 : 1	44,2 : 1

Es scheint nach diesem Versuche, daß der Wert des Verhältnisses etwas höher liegt, wie bei dem Nitritbildner, doch muß der Versuch mit größeren Mengen wiederholt werden, um sicheren Aufschluß darüber geben zu können. Soviel aber steht nach diesem Versuche fest — der Nitratbildner vermag ebenso wie der Nitritbildner die Kohlensäure der Luft zu assimilieren.

Nachdem ich die begünstigende Wirkung des Zuckers auf die Nitrifikation sowohl wie das Verschwinden des Zuckers in Reinkulturen des Nitratbildners festgestellt hatte, kam ich auf den Gedanken, der Zucker könnte doch vielleicht als Ersatz für die Kohlensäure der Luft dienen. Deshalb stellte ich einen Versuch an, um darüber Gewißheit zu erlangen. Dafür benutzte ich ziemlich weithalsige Kolben, die ich mit je 300 g Sand füllte. Jeder Kolben bekam 50 ccm einer 0,5 Proz. KNO_2 enthaltenden Nährlösung. Die Hälfte der Kolben bekam außerdem 0,1 Proz.

Dextrose, die andere Hälfte blieb als Kontrolle. Nach dreimaligem Sterilisieren bei 100° impfte ich 6 solche Kolben mit je 2 ccm einer Nitratkultur. 2 Kolben, und zwar einer mit, der andere ohne Zucker blieben als ungeimpfte Kontrollen zu meiner Verfügung. Von diesen 8 Kolben wurden 6, unter ihnen auch die ungeimpften, am selben Tage folgendermaßen zur Durchlüftung mit kohlensäurefreier Luft eingerichtet: Jeder Kolben wurde mit einem Gummistopfen versehen, durch welchen zwei Glasröhren gingen, die eine zuführende bis auf den Boden, die andere abführende bis unter den Stopfen. Jede dieser rechtwinklig gebogenen Röhren ging dann in einen mit Watte gefüllten und mit durch Siegellack gedichteten Korken versehenen Cylinder, von dessen anderer Seite ein Glasrohr ableitete. Die Röhren, Stopfen u. s. w. wurden natürlich vorher sorgfältig sterilisiert. Die 6 Kolben wurden in einer Serie mit einem T-Rohr verbunden, das von dem Kohlensäure absorbierenden Apparate zu den Kolben führte. Dieser Apparat bestand aus einer mit Kalilauge gefüllten Waschflasche, einem Natronkalkturm und einem kleinen Kaliapparat. Die von den Kolben abgehenden Röhren wurden mit je einem Schwefelsäurerohr, einem Chlorcalciumrohr und einem Kaliapparat verbunden, um zu konstatieren, ob aus dem eventuell verschwundenen Zucker CO_2 entstand. Hinter jedem Kaliapparat kam wieder ein Chlorcalciumrohr. Diese waren dann durch ein T-Rohr mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden. Schon am Tage der Impfung wurde mit der Durchlüftung begonnen, die jeden Tag 1 Stunde lang durchgeführt wurde. Die 6 Kaliapparate wurden jeden Tag gewogen, um eventuell irgend eine Bildung von Kohlensäure aus der Dextrose festzustellen. Doch zeigten die gewonnenen Gewichte große Schwankungen, die auf eine unvollständige Absorption des Wasserdampfes zurückzuführen sein dürfte.

Die beiden Kontrollkolben, die mit Watte verschlossen, frei an der Luft standen, zeigten schon nach 14 Tagen ein vollständiges Verschwinden des Nitrits. Der Durchlüftungsversuch wurde erst nach 32 Tagen abgebrochen und die Kolben nach Ausziehen mit gleichen Wassermengen auf Nitrit, Nitrat und Zucker geprüft. Der Zucker war in den zwei geimpften und dem einen ungeimpften Kolben in ganz gleicher Menge vorhanden, welche der Zugabe so genau wie möglich entsprach. In 5 Kolben war absolut keine Spur von Nitrat vorhanden; in einem mit Dextrose versehenen Kolben waren nur geringe Spuren mit Diphenylamin zu konstatieren, die eine quantitative Bestimmung nicht erlaubte. Dagegen war aus den mit Watte verschlossenen Dextrosekolben, die schon nach 14 Tagen eine vollständige Nitratation gezeigt hatten, die Dextrose ganz verschwunden. Hierdurch wird ein weiterer, sehr strenger Beweis geliefert, daß der Nitratbildner tatsächlich die Dextrose verbraucht. Wenn eine Verunreinigung die Ursache gewesen wäre, wäre die Dextrose auch in den anderen geimpften, aber kohlensäurefrei gehaltenen Kolben verschwunden. Andererseits zeigt dieses Experiment, daß die Dextrose die Kohlensäure der Luft nicht zu ersetzen vermag. Ihre Wirkung muß in irgend einer anderen Weise zu erklären sein.

Der Versuch wurde darauf wiederholt, nur wurde diesmal erst 4 Tage nach der Impfung mit der Durchlüftung begonnen. Die Einrichtung war dieselbe wie in dem vorigen Versuche, nur wurde diesmal ein zweites Chlorcalciumrohr vor jedem Kaliapparat eingeschaltet, um eine vollständige Absorption des Wassers zu garantieren. Nur 4 Kolben, und zwar zwei ohne und zwei mit Dextrose (diesmal nur 0,05 Proz.) wurden für die Durchlüftung benutzt. Zwei wurden als Kontrolle mit

und ohne Dextrose einfach mit Watte verschlossen gehalten. Diesmal blieben die Gewichte der sämtlichen Kaliapparate fast vollständig konstant, wie auch das Gewicht des vor dem Kolben eingeschalteten Apparates. Daraus darf ich mit Sicherheit schließen, daß diesmal die in dem Kolben enthaltene Luft vollständig von Kohlensäure frei blieb. Schon nach 11 Tagen war das Nitrit aus dem mit Watte verschlossenen Kolben vollständig verschwunden. Nach 14 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Gegen alle Erwartung fand ich diesmal in zwei von den durchlüfteten Kolben gar keine Spur von Nitrit, es war schon vollständig oxydiert. Von diesen beiden enthielt der eine Dextrose, der andere nicht. Die anderen beiden Kolben zeigten noch etwas Nitrit, doch war in dem Kolben mit Dextrose fast alles, in dem dextroselosen mehr als die Hälfte verschwunden. Ich möchte hier hinzufügen, daß in den sämtlichen Kulturen die Dextrose verschwunden war. Diese beiden Kolben wurden mit folgenden Ergebnissen auf Nitrit und Nitrat analysiert.

Tabelle XX (Analytische Belege Analyse 32).

	Im Kolben gefundener Nitrit-N in mg	Im Kolben gefundener Nitrat-N in mg
Kontrolle	16,22	18,36
N + 0,05-proz. D.	4,52	30,54

Wenn wir nach einer Erklärung für diese ganz abweichenden Resultate suchen, müssen wir unwillkürlich an die oben angeführten Angaben Winogradskys betreffs des Nitritbildners denken. Er zeigte nämlich, daß der Nitritbildner nur am Anfang die Kohlensäure der Luft nötig hat. Nachher wird durch das Neutralisieren der entstandenen salpetrigen Säure die nötige Kohlensäure aus dem Karbonat frei gemacht. Hier sind daher die Verhältnisse leicht verständlich. Beim Nitratbildner aber bleibt die Möglichkeit einer Neutralisation aus.

Wie wir oben gesehen haben, ist das Vorhandensein eines Karbonats eine Wachstumsbedingung des Nitratbildners, aber bis jetzt ist absolut keine Erklärung dafür gefunden worden. Wie gesagt, kann es sich hier nicht um ein Neutralisieren der Säure handeln; sie ist ja schon am Anfang in Form ihres Salzes vorhanden. Doch nach meinem letzt angeführten Versuche scheint es höchst wahrscheinlich, daß irgend eine Freimachung der Kohlensäure aus dem Karbonat tatsächlich stattfindet. Sonst ist eine vollständige Nitratation in den kohlensäurefrei gehaltenen Kulturen nicht zu erklären. Selbst bei den beiden Kolben, die Nitrit enthielten, muß eine bedeutende Nitratbildung nach dem Anfang der Durchlüftung stattgefunden haben. Während der ersten anderthalb Tage nach der Impfung standen die Kulturen in einem ungeheizten verhältnismäßig kalten Zimmer (ca. 12°), nachher bei 25° im Brutzimmer, so daß sich während dieser Zeit wenig Nitrat gebildet haben dürfte. Selbst bei den Kontrollkulturen war das Nitrat erst nach 11 Tagen verschwunden, so daß mir die Möglichkeit einer Bildung von mehr als der Hälfte des Nitrats in den ersten 3 Tagen ganz ausgeschlossen scheint. Auch von vielleicht aus dem Zucker durch die Tätigkeit einer verunreinigenden Form entstehender Kohlensäure kann nicht die Rede sein. Wie schon gesagt, enthielt nur die Hälfte der Kolben Zucker. Bei den Ueberimpfungen in Bouillon und auf Heyden-Agar blieb Wachstum ganz aus. Deshalb müssen wir schließen, daß der Nitratbildner, nachdem er etwas angewachsen ist, irgendwie das Karbonat zersetzen und daraus seine Kohlenstoffernährung bewirken kann. In diesem Sinne verhält er sich ganz

wie der Nitritbildner. Leider fehlte es an der nötigen Zeit, diesen Versuch noch einmal zu wiederholen. Eine Wiederholung wäre allerdings sehr zu wünschen.

Wenn wir auf die sämtlichen mit Kulturen des Nitrit- bezw. Nitratbildners gemachten Versuche zurückblicken, finden wir einige sehr interessante Resultate. Es ist hier konstatiert worden, daß die von Winogradsky und Omelianski festgestellte hemmende Wirkung der Dextrose nur für Flüssigkeitskulturen gilt, was schon aus den Bodenversuchen mit Sicherheit hervorging. Wir haben auch, wenigstens in einigen Versuchen mit je einer Form, einen weit außerhalb der Fehlergrenzen liegenden begünstigenden Einfluß der Dextrose auf die Nitrifikation feststellen können. Die Resultate, die mit sicherlich reinen Kulturen des Nitratbildners gewonnen wurden, sind nicht so unzweideutig, da hier eine große Unregelmäßigkeit in der Nitrifikation hervortritt (siehe aber p. 495 und früher). Jedoch wurde mit Hilfe dieser Kulturen mit Sicherheit festgestellt, daß die Dextrose irgendwie von dem Nitratbildner verbraucht werden kann.

Verschiedene Möglichkeiten bleiben uns für die Erklärung dieser begünstigenden Wirkung der Dextrose. Erstens könnte es sich hier vielleicht um eine Reizwirkung der Dextrose auf die nitrifizierenden Bakterien handeln. Wenn die Dextrose, wie Winogradsky und Omelianski behaupten, für diese Bakterien als ein Gift zu betrachten wäre, dann könnten wir ihre Reizwirkung mit derjenigen, die für kleine Mengen von Giften im allgemeinen zu gelten scheint, vergleichen. Es scheint ein ziemlich allgemeines Gesetz zu sein, daß Gifte in sehr schwacher Konzentration eine Beschleunigung des Wachstums wie der anderen Lebensvorgänge verursachen. Gewöhnlich folgt die Beschleunigung direkt der Zugabe des Giftes, doch scheint in einzelnen Fällen erst eine Wachstumshemmung einzutreten[1]). Eine ähnliche anfänglich eintretende Hemmung konnte ich auch bei den Sandkulturen des Nitritbildners feststellen (siehe p. 25).

Gegen eine Reizwirkung spricht aber die von mir festgestellte Tatsache, daß die Dextrose in reinen Kulturen des Nitratbildners verschwindet. Dies spricht für eine Mitwirkung der Dextrose bei der Ernährung des Nitratbildners. Es wurde aber auch konstatiert, daß die Dextrose die Kohlensäure der Luft nicht zu ersetzen vermag, was wieder gegen ihre Wirkung als Nahrungsquelle spricht.

Drittens ist die Möglichkeit vorhanden, daß die Dextrose einigermaßen als Energiequelle dienen könnte. Darüber konnte ich leider wegen Mangel an Zeit keine Versuche anstellen. Um hierüber zu einer einigermaßen sicheren Erklärung zu gelangen, müßte das Schicksal der Dextrose festgestellt werden, was allerdings wegen ihrer geringen Menge eine sehr schwierige Aufgabe wäre. Daneben müßten Vergleichsbestimmungen des gebildeten Nitrats angestellt werden. Wenn sich hierbei herausstellen sollte, daß der Dextroseverbrauch mit einer Verringerung der Nitritoxydation zusammenhängt, so könnte eine Nutzbarmachung der Dextrose als Energiequelle behauptet werden. Alle diese Fragen bilden aber Aufgaben für weitere Forschungen.

Endlich bliebe die Möglichkeit noch, daß es entweder ein oder

---

1) Vergl. Wirkung des Aethers auf Keimpflanzen. (Townsend, Annals of Botany. Vol. XI. 1897. p. 522, zitiert nach Pfeffer, Pflanzenphys. Bd. II. p. 130.) Weiter über die Reizwirkung der Gifte bei Jost, Pflanzenphys. 1904. p. 487.

mehrere der durch die Tätigkeit des Nitratbildners gebildeten Zersetzungsprodukte sind, die auf die Nitrifikation begünstigend wirken (also eine indirekte Reizwirkung). Die durch die Versuche mit essigsaurem bezw. buttersaurem Kalk gewonnenen Resultate sprechen aber gar nicht dafür.

Von allen diesen Möglichkeiten scheint mir diejenige des Dextroseverbrauchs als Ersatzenergiequelle am wahrscheinlichsten. Durch deren Verbrauch könnte vielleicht der Nitratbildner zu einer später eintretenden stärkeren Oxydation des Nitrits angeregt werden. Ich behalte mir vor, weitere Versuche über diese interessante Frage anzustellen.

IX. Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Nitrifikation im Boden.

Der erste, der sich mit dieser Seite der Schwefelkohlenstofffrage beschäftigt hat, scheint Chaudon de Briailles[1]) zu sein. Er behandelte im November 1894 einzelne Parzellen mit 40 bezw. 100 g CS_2 pro Quadratmeter und ließ Kontrollparzellen daneben unbehandelt. Er bestimmte den Nitratstickstoff von Proben aus diesen Parzellen zirka jeden Monat während des Winters und Frühlings und fand dabei höchstens im Anfang der Nitrifikation eine Hemmung, die sich im Frühling (April und Mai) in eine ziemlich plötzliche Förderung umwandelte. Die Förderung war bei der größeren viel bedeutender als bei der kleineren CS_2-Zugabe. Pagnoul[2]) fand bei seinen Untersuchungen über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Umwandlung des organischen Stickstoffs in Form von Blutmehl bezw. Oelkuchen am Anfang eine Unterdrückung der Nitrifikation, die längere Zeit dauerte (in einem Versuch ca. 40 Tage). Nachher aber tritt die Nitrifikation viel stärker ein als in der unbehandelten Erde. Hier tritt auch die Ammoniakbildung viel eher ein als die Nitratbildung, und so scheint ziemlich sicher hieraus hervorzugehen, daß es sich hier um eine Hemmung der Nitrifikation handelte. Trotzdem, da der Stickstoff in organischer Form zugesetzt wurde, dürfte der Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Nitrifikation nicht der einzige Faktor gewesen sein, welcher bei der Nitrifikationshemmung eine Rolle gespielt hat.

Wollny[3]) hat später die Resultate Pagnouls bestätigt. Heinze[4]) gibt auch an, er habe ähnliche Resultate bekommen, doch hat er, soviel ich weiß, nichts darüber veröffentlicht.

Vor kurzer Zeit hat Heinze[5]) eine größere Arbeit über die Schwefelkohlenstoffbehandlung des Bodens erscheinen lassen, in welcher er unter anderem den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Nitrifikation im Boden bespricht. Außer einigen Vegetationsversuchen, die meines Erachtens über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Nitrifikation absolut keinen Aufschluß geben, führt er einige „analytische Daten über den Einfluß des CS_2 auf Nitrifikation“ an. Einige von

---

1) Chaudon de Briailles, De l'influence du sulfure de carbone sur la nitrification. (Revue de viticulture. T. IV. p. 390. Ref. in Kochs Jahresber. Jahrg. IV. 1895. p. 280.)

2) Pagnoul, Annales agronomiques. T. XX. 1895. p. 497.

3) Wollny, Vierteljahresschrift d. bayr. Landwirtschaftsrats. 1898. Heft 4.

4) Heinze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 353. Hier auch eine Zusammenstellung der Literatur über die Schwefelkohlenstofffrage.

5) Derselbe, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII.

diesen werden aus einer Arbeit Krügers und Heinzes[1]) entnommen. Diese vergleichen den Nitratgehalt unbehandelter und mit CS_2 behandelter Parzellen einer Brache 1904, 1905 und 1906 und fanden ca. 4 Monate nach der Behandlung weniger Nitrat in den letzteren. Es wurden aber (außer 1905) am Anfang keine Bestimmungen des Nitratgehaltes der verschiedenen Parzellen gemacht, und es wurde in beiden Fällen verhältnismäßig sehr wenig Nitrat gefunden. Heinze bestimmte wieder nach 2 Jahren den Nitratgehalt der behandelten und unbehandelten, 1904 entnommenen Böden und fand jetzt ebensoviel in den behandelten als in den unbehandelten. In der Zwischenzeit wurden anscheinend keine Bestimmungen gemacht, auch wurde die Erde während der 2 Jahre fast lufttrocken.

Aus diesen Resultaten können wir kein Bild von der Wirkung des CS_2 auf die Nitrifikation erhalten. Deshalb schien es mir der Mühe wert, die Frage noch eingehender zu untersuchen und besonders durch öfters wiederholte Nitratbestimmung in kleineren, sorgfältig aufbewahrten und gleichmäßig feuchtgehaltenen Erdmengen den Verlauf der Nitrifikation und die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs darauf näher festzustellen.

Um die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Ammoniakoxydation genauer zu verfolgen und zahlenmäßig festzustellen, machte ich ein paar Versuche, in denen, um eine eventuell störende Wirkung organischer Substanzen zu vermeiden, der Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak gegeben wurde. Weiter wurden die Versuche in Gefäßen gemacht, um ein Auslaugen des Nitrats auszuschließen.

Im ersten Versuche wurden zwei Gefäße mit je 17,5 Kilo einer stark nitrifizierenden Komposterde gefüllt. Jedes Gefäß bekam 0,2 Proz. Ammoniumsulfat; weiter wurde das eine mit 250 ccm Schwefelkohlenstoff — also einer ziemlich starken Zugabe — behandelt. Der Nitratgehalt des Bodens wurde vorher bestimmt und als 71,5 mg pro Kilo trockener Erde gefunden. Die zweite Nitratbestimmung wurde nach 3 Wochen gemacht. Danach wurde alle 2 Wochen eine neue Bestimmung durchgeführt. In allen Fällen wurde für die Bestimmung eine Bodenprobe von 1 kg Gewicht genommen. In der folgenden Tabelle stehen die dadurch gewonnenen Ergebnisse:

Tabelle XXI (Analytische Belege Analysen 33—38).

Zeitdauer	Nitratstickstoff in unbehandeltem Boden pro Kilo trockener Erde in mg	Nitratstickstoff in mit CS_2 behandeltem Boden pro Kilo trockener Erde in mg
Am Anfang	71.45	71,45
Nach 3 Wochen	316,82	58,68
„ 5 „	503,88	57,54
„ 7 „	501,91	88,85
„ 9 „	514,97	486,97

Aus diesen Resultaten ersieht man, daß zuerst der Schwefelkohlenstoff stark hemmend, ja man kann sagen, aufhebend auf die Nitrifikation gewirkt hat. Nachher aber ist die Beschleunigung ebenso auffallend. In der 8. und 9. Woche ist fast so viel Nitrat gebildet worden als bei der Kontrollerde während 5 Wochen. Das Ammoniak war in der Kontrollerde nach 5 Wochen, in der mit Schwefelkohlenstoff behandelten Erde nach 9 Wochen verschwunden. Nach seinem Verschwinden im

1) Krüger u. Heinze, Landw. Jahrbücher 1907. Heft 3.

Schwefelkohlenstoffgefäß setzte ich beiden Böden 0,2 Proz. Ammoniumsulfat zu, um die Nitrifikationskraft weiter zu vergleichen. Eine Woche nach dem Zusetzen erhielt ich folgende Zahlen

	an Nitrat-N pro Kilo trockener Erde in mg
Kontrollerde	699,84
CS_2-Erde	788,28

Wenn wir den vorher gebildeten Nitratstickstoff abziehen, bekommen wir für die während der Woche gebildeten Mengen

	in mg
Kontrollerde	185,68
CS_2-Erde	301,31

also bedeutend mehr bei der mit Schwefelkohlenstoff behandelten Erde. Dieser Unterschied könnte vielleicht teilweise erklärt sein dadurch, daß ein Teil der Bakterien im Kontrollboden während der Periode, in welcher kein Ammoniak vorhanden war, aus Mangel an dieser Substanz zu Grunde gegangen war. Doch dürfte dies kaum eine bedeutende Rolle gespielt haben.

Aus diesem Versuch geht klar hervor, daß der Schwefelkohlenstoff zuerst die Nitrifikation ganz aufheben und zweitens nachher sie stark beschleunigen kann, d. h. er zeigt sich den nitrifizierenden Bakterien gegenüber als ein kräftiges Reizmittel. Anders ist seine Wirkung gar nicht zu erklären, und die Kochsche Auffassung von der Schwefelkohlenstoffwirkung im allgemeinen läßt auch seine Wirkung auf die nitrifizierenden Bakterien am besten verstehen.

Eine zweite Versuchsreihe wurde etwas anders angestellt. Erstens benutzte ich anstatt Komposterde den gewöhnlichen Lehmboden des Versuchsfeldes des landwirtschaftlich-bakteriologischen Instituts in Göttingen. Dieser Boden erwies sich bei der vorläufigen Nitratstickstoffbestimmung als verhältnismäßig sehr arm an Nitrat im Vergleich zu der Komposterde. Ein Kilo lufttrockener Erde enthielt am Anfang nur 22,5 mg Nitratstickstoff. Vier Gefäße wurden je mit 17,5 Kilo dieses Bodens gefüllt. Von diesen Gefäßen bekam a Ammoniumsulfat (0,5 Proz.), b Ammoniumsulfat (0,5 Proz.) + 250 ccm Schwefelkohlenstoff, d 250 ccm Schwefelkohlenstoff, während c unbehandelt blieb. Am Anfang wurde jede Woche der Nitrat-N bestimmt. Später alle 2 Wochen. Auch wurde in den beiden ersten Gefäßen der Ammoniakgehalt durch nachträgliche Zugaben möglichst auf der anfänglichen Höhe gehalten. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben:

Tabelle XXII (Analytische Belege, Analysen 39—47).

	Mit Zugabe von Ammoniumsulfat		Ohne Zugabe von Ammoniumsulfat	
Zeitdauer	Unbehandelter Boden Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde	Mit CS_2 behandelter Boden Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde	Unbehandelter Boden Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde	Mit CS_2 behandelter Boden Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde
Am Anfang	22,74	22,47	22,47	22,47
1. Woche	17,62	15,02	16,78	16,43
2. „	19,06	15,91	17,46	18,10
3. „	31,25	9,68	17,95	9,11
4. „	123,2	13,6	23.7	14,4
5. „	406,4	14,05	26,8	13,7
7. „	—	43,46	31,9	18,20
8. „	667,2	150,2	38,5	21,5
9. „	746,9	216,6	36,1	23,6

Diese Zahlen stimmen im wesentlichen mit denen des ersten Versuches überein. Hier wie da finden wir am Anfang eine Unterdrückung der Nitrifikation durch die CS_2-Zugabe. Ja in beiden Reihen finden wir am Anfang einen Rückgang des Nitratgehaltes. Dieser ist allerdings sehr klein, aber da die beiden Versuche darin übereinstimmen, und da er im zweiten Versuch sowohl in der Erde ohne N-Zugabe wie in der Erde mit N-Zugabe zu sehen ist, kommt man auf den Gedanken, es könnte sich hier vielleicht um eine einfache Denitrifikationswirkung oder eine Festlegung der Nitrate durch Bakterien [1]) handeln, die allerdings nur während kurzer Zeit zu Tage tritt, da ihre Wirkung bald von einer wieder eintretenden Nitrifikation verdeckt wird. Dies würde zwar gegen die Meinung von Hiltner und Störmer sprechen, welche die Unterdrückung der Denitrifikation als wesentlichen Faktor bei der günstigen Wirkung des Schwefelkohlenstoffs ansehen. Es wäre ganz interessant, diese Frage durch eine Reihe solcher Versuche näher zu prüfen.

Was das Wiedereintreten der Nitrifikation nach der Unterdrückung durch Schwefelkohlenstoff in diesem Versuche betrifft, finden wir es zu fast genau derselben Zeit wie im ersten Versuche. Hier aber ist es nicht so deutlich wie dort. Dies ist natürlich durch ein geringeres Vorhandensein der Nitrifikanten im Boden am Anfang im Vergleich zum ersten Versuche zu erklären.

Aus den beiden Versuchen ersehen wir, wie Pagnoul bei Zugabe organischen Stickstoffs auch fand, erst eine Unterdrückung der Nitrifikation, die nach einer Zeitdauer von ca. 40—50 Tagen in das Gegenteil — eine Beschleunigung — umschlägt. Das ganze Bild ist dasjenige einer Reizwirkung, die sich in einer anfänglichen Hemmung und einer nachträglichen Beschleunigung der Prozesse ausdrückt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Dextrose in kleineren Mengen (bis 0,5 Proz.) dem nichtsterilisierten Boden zugesetzt, vermag die Nitrifikation ganz bedeutend zu beschleunigen. Hiermit finden die diesbezüglichen Resultate Bazarewskis ihre Bestätigung.

2) Der begünstigende Einfluß der Dextrose zeigt sich am stärksten bei günstigen Temperaturbedingungen in der 2. und 3. Woche nach dem Zusatz. Nachher nimmt seine Wirkung ab und kann sich sogar in eine scheinbare Hemmung umwandeln. Diese scheinbare Hemmung ist aber auf eine durch die Anwesenheit organischer Substanzen beschleunigte Denitrifikation zurückzuführen.

3) Nitrifikation und Denitrifikation können demnach zu gleicher Zeit im Boden stattfinden.

4) Rohrzucker, Glycerin und Laktose, in geringer Konzentration dem Boden zugesetzt, scheinen einen schwach begünstigenden Einfluß auf die Nitrifikation auszuüben. Mit buttersaurem Kalk konnte keine Wirkung konstatiert werden, während essigsaurer Kalk eine hemmende Wirkung zu haben scheint.

5) Pepton und Harnstoff wirken selbst in ziemlich geringer Konzentration (0,5 resp. 0,75 Proz.) auf die Nitrifikation im Boden stark hemmend.

---

1) Hiltner und Störmer, Arbeiten aus der bakt. Abt. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. 1903. Sie fanden am Anfang einen Rückgang, später eine Steigerung des Bakteriengehaltes des mit CS_2 behandelten Bodens.

6) Der Luftzutritt spielt bei der Nitrifikation im Boden eine sehr wesentliche Rolle. Zum Teil deshalb wird die Nitrifikation durch zu großen, den Luftzutritt hemmenden Wassergehalt (26 Proz.) des Bodens stark verlangsamt. Trockenheit scheint etwas ähnlich, nur nicht so stark zu wirken.

7) Das Feuchtigkeitsoptimum für die Nitrifikation in einem Lehmboden bewegt sich um 16 Proz. Bei 10 Proz. wie auch bei 26 Proz. ist die Nitrifikation sehr stark gehemmt.

8) Zu großer Wassergehalt des Bodens verwandelt die für die Nitrifikation günstige Wirkung der Dextrose in das Gegenteil.

9) In annähernd reinen Kulturen des Nitrat- resp. Nitritbildners in sterilem Sand bezw. steriler Erde wirken Zugaben kleiner Mengen (0,02—0,05 Proz.) Dextrose beschleunigend auf die Nitrifikation. Die Beschleunigung wird von einem Verschwinden der Dextrose begleitet.

10) In Reinkulturen des Nitratbildners in sterilem Sand bezw. steriler Erde verschwinden kleine Mengen (bis 0,05 Proz.) zugefügter Dextrose. Dabei scheint eine Beschleunigung der Nitrifikation stattzufinden.

11) Der Nitratbildner sowohl wie der Nitritbildner assimilieren Kohlensäure. Das Verhältnis zwischen oxydiertem Stickstoff und assimiliertem Kohlenstoff scheint bei dem Nitratbildner etwas höher zu liegen als bei dem Nitritbildner.

12) Es ist höchst wahrscheinlich, daß für den Nitratbildner wie für den Nitritbildner die Kohlensäure der Luft nur am Anfang nötig ist. Nachher scheinen beide — nicht nur der Nitritbildner wie Winogradsky meint — aus dem im Nährsubstrat vorhandenen Karbonat den für ihr Gedeihen nötigen Kohlenstoff beziehen zu können.

13) Dextrose vermag als Kohlenstoffquelle des Nitratbildners die Kohlensäure der Luft nicht zu ersetzen.

14) Daß die die Nitrifikation beschleunigende Wirkung der Dextrose auf einer Reizwirkung beruht, ist unwahrscheinlich, da kleine Mengen Dextrose in Reinkulturen der nitrifizierenden Bakterien verschwinden. Höchstens könnte es sich um eine indirekte Reizwirkung der aus der Dextrose durch nitrifizierende Bakterien entstandenen Umsetzungsprodukte handeln.

15) Der günstige Einfluß der Dextrose beruht nicht auf einem Ersatz der Kohlensäure der Luft als Kohlenstoffquelle.

16) Vorläufig hat die Annahme am meisten Wahrscheinlichkeit für sich, daß die Dextrose bis zu einem gewissen Grade als Ersatzenergiequelle dienen kann. Die auf diese Weise erlangte Energie würde die nitrifizierenden Bakterien dann zu verstärkter Oxydation von Ammoniak bezw. salpetriger Säure befähigen.

17) Schwefelkohlenstoff wirkt anfangs stark hemmend, später aber beschleunigend auf die Nitrifikation im Boden. Es handelt sich sicherlich hier um eine Reizwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die nitrifizierenden Bakterien.

Analytische Belege.

Nitrifikationsversuche im Lehmboden mit Dextrose.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N.	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N pro kg trockener Erde in mg
No. 1, p. 407. Nach 18 Tagen	Kontr. ohne Zusatz	46,6 47,2	46,9	20	28,7	0,4878	11,5	7,3	1,19	1000	988,1	14,5
	N.	41,0 41,9	41,45	50	28,1	0,4947	98,05	93,85	1,25		987,5	190,6
	N. + 0,02 % D.	28,5 29,5	29,0	60			115,6	111,4	1,10		989,0	225,8
	N. + 0,2 % D.	44,7 45,5	45,1		27,9	0,5078	122,3	118,1	1,315		986,85	241,8
	N. + 0,5 % D.	56,0 56,6	56,3		27,8	0,5036	110,3	106,1	1,075		989,25	217,2
No. 2, p. 407. Nach 26 Tagen	N.	47,1 47,2	47,15	30	27,2	0,5147	34,45	30,45	0,830	350	347,1	180,9
	N. + 0,2 % D.	30,2 —	30,2				51,4	47,4	0,855	700	694,02	141,0
	N. + 0,5 % D.	28,8 27,3	28,05				53,55	49,55	0,925		693,53	147,5
	N. + 1,0 % D.	37,4 38,2	37,8				43,8	39,8	0,855		694,02	115,6
No. 3, p. 408. Nach 8 Tagen	N.	15,8 15,8	15,8	10	26,2	0,5344	10,4	7,9	1,425	500	492,87	34,4
	N. + 0,2 % D.	18,6 18,6	18,6				7,6	5,1	1,775		491,12	22,3
	N. + 0,5 % D.	25,7 26,7	26,2	15			13,1	10,6	1,100		494,5	45,9
No. 4, p. 408. Nach 14 Tagen	N.	56,9 57,1	57,0	30			21,6	19,1	1,785	500	491,01	83,5
	N. + 0,2 % D.	22,3 22,5	22,4	20			30,0	27,5	1,93		490,35	123,2
	N. + 0,5 % D.	34,0 —	34,0				44,6	42,1	1,71		491,45	183,9
No. 5, p. 408. Nach 21 Tagen	N.	52,2 52,6	52,4	50	25,7	0,5447	76,1	73,6	1,315	600	592,11	271,9
	N. + 0,2 % D.	10,0 10,4	10,2				118,3	115,8	1,035		593,79	426,3
	N. = 0,5 % D.	2,3 3,8	3,05				125,45	122,95	1,065		593,61	452,8
No. 6, p. 408. Nach 27 Tagen	N.	13,9 13,9	13,9	70			166,0	163,5	1,65		590,1	606,74
	N. + 0,2 % D.	22,4 22,8	22,6	80			183,0	180,5	1,50		591,00	668,5
	N. + 0,5 % D.	1,6 1,2	1,4	70			178,5	176,0	1,745		589,53	653,96

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N.	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N pro kg trockener Erde in mg
No. 7, p. 410. Nach 22 Tagen	N.	43,5 43,1	43,3	30	24,7	0,5668	30,8	29,0	0,84	600	594,96	110,8
	N. + 0,5 % D.	23,6 22,9	23,25				50,85	49,05	0,89		594,66	187,5
No. 8, p. 410. Nach 37 Tagen	N.	9,4 9,7	9,55	30	27,4	0,5109	72,65	70,65	1,21	700	691,5	209,7
	N. + 0,02 % D.	20,9 20,7	20,8	40			88,8	86,8	1,12		692,16	257,3
	N. + 0,5 % D.	7,2 7,4	7,3	30	31,7	0,4409	87,8	85,5	1,37		691,15	219,6
No. 9, p. 410. Nach 53 Tagen	N.	23,5 24,1	23,8	40	27,4	0,5109	85,8	83,8	0,88	600	594,72	288,7
	N. + 0,02 % D.	26,3 27,1	26,7				82,9	80,9	0,98		594,12	279,1
	N. + 0,5 % D.	9,0 9,1	9,05				100,55	98,55	0,99		594,16	346,7
No. 10, p. 411. Nach 14 Tagen	10 % Wassergehalt N.	67,6 68,0	67,8	30	27,9	0,5018	15,9	13,4	1,12	500	494,4	54,54
	N. + 0,5 % D.	70,1 70,5	70,3				13,4	10,9	1,17		494,15	44,45
	20 % Wassergehalt N.	38,1 38,2	38,15				44,95	42,55	1,34		493,3	173,7
	N. + 0,5 % D.	18,7 18,8	18,75	40			92,85	90,35	1,46		492,7	369,42
	30 % Wassergehalt N.	24,8 24,8	24,8	20			31,0	28,5	1,18		494,1	116,12
	N. + 0,5 % D.	46,4 46,5	46,45				9,35	6,85	1,31		493,45	27,95
No. 11, p. 411. Nach 24 Tagen	10 % Wassergehalt N.	45,7 46,1	45,9	40	27,9	0,5018	65,7	63,2	1,36	500	493,2	258,1
	N. + 0,5 % D.	59,3 59,2	59,25				52,35	49,85	1,21		493,95	203,65
	20 % Wassergehalt N.	3,3 2,9	3,1				108,5	106,0	1,49		493,55	432,7
	N. + 0,5 % D.	15,9 16,2	16,05				95,55	93,05	1,524		492,38	380,77
	30 % Wassergehalt N.	39,2 38,5	38,85				72,75	70,25	1,12		494,4	285,94
	N. + 0,5 % D.	16,7 —	16,7	20			39,1	36,6	1,29		494,55	149,5

Denitrifikationsversuch.

No. der Analyse und Textseite	Zum Impfen benutzte Erde	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Nitrat-N in mg in Probe	Nitrat-N in mg pro Kolben nach Multiplikation durch 3	Nitrat-N entbunden in mg
	10 % Wassergehalt										
No. 12 p. 413. Nach 14 Tagen	N. a	22,5 22,6	22,55	10	27,9	0,5018	5,45	4,45	2,213	6,64	20,53
	N. b	22,3 22,6	22,45				5,55	4,55	2,283	6,85	20,32
	N. c	19,9 20,0	19,95		23,5	0,5957	3,55	2,55	1,519	4,56	22,61
	N. + 0,5 % D. a	23,8 24,0	23,9		27,9	0,5018	4,00	3,00	1,505	4,52	22,65
	N. + 0,5 % D. b	24,2 24,3	24,25				3,65	2,65	1,3297	3,99	23,18
	N. + 0,5 % D. c	23,5 —	23,5				4,4	3,4	1,706	5,12	22,05
	20 % Wassergehalt										
	N. a	26,3 26,3	26,3				1,6	0,6	0,301	0,90	26,27
	N. b	22,0 —	22,0				5,9	4,9	2,458	7,37	19,80
	N. c	24,5 25,0	24,75				3,15	2,15	1,078	3,23	23,94
	N. d	23,3 23,0	23,15				4,75	3,75	1,882	5,65	21,52
	N. + 0,5 % D. a	26,3 26,5	26,4				1,5	0,5	0,251	0,75	26,42
	N. + 0,5 % D. b	26,6 26,2	26,4				1,5	0,5	0,251	0,75	26,42
	N. + 0,5 % D. c	26,4 26,5	26,45				1,45	0,45	0,226	0,68	26,49
	N. + 0,5 % D. d	26,9 26,5	26,7				1,2	0,2	0,1003	0,30	26,87
	30 % Wassergehalt										
	N. a	20,8 22,1	20,95				6,95	5,95	2,986	8,96	18,21
	N. b	22,5 22,9	22,7				4,2	4,2	2,108	6,32	20,85
	N. c	19,4 19,8	19,6		23,5	0,5957	3,9	2,9	1,7285	5,18	21,99
	N. + 0,5 % D. a	25,8 26,2	26,0		27,9	9,5018	1,9	0,9	0,452	1,36	25,71
	N. + 0,5 % D. b	Nitrat verschwunden									
	N. + 0,5 % D. c	Nitrat verschwunden									
	Ungeimpfte Kolben										
	a	8,8 8,8	8,8				18,1	9,083	27,248	Durchschnitt 27,17	
	b	8,7 9,1	8,9				18,0	9,032	27,097		

Nitrifikationsversuche im Lehmboden mit verschiedenen organischen Substanzen.

No. der Analyse und Textseite	N. = Ammoniak, Rz. = Rohrzucker, Glyc. = Glycerin, Essigs.-K. = Essigsaure Kalkzugaben	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge: Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N pro kg trockener Erde
No. 13 p. 414. Nach 14 Tagen	N	37,0 37,4	37,2	30	27,4	0,5109	45,0	43,0	1,04	500	494,8	178,08
	N. + 0,05 % Rz.	32,7 32,3	32,5				49,7	47,7	1,07		494,65	197,6
	N. + 0,5 % Rz.	43,5 43,3	43,4				38,8	36,8	0,83		495,85	152,01
	N. + 0,1 % Glyc.	5,8 6,4	6,1	20			48,7	46,7	1,05		494,75	193,42
	N. + 0,5 % Glyc.	8,2 8,2	8,2				46,6	44,6	0,83		495,85	184,21
	N. + 1,0 % Glyc.	32,9 33,1	33,0				21,8	19,8	0,95		495,25	81,82
	N.+0,5 % Essigs.-K.	21,8 21,7	21,75				33,05	31,05	1,06		494,7	128,62
	N.+1,5 % Essigs.-K.	32,4 32,2	32,3				22,5	20,5	0,93		495,35	84,78
No. 14 p. 414. Nach 28 Tagen	N.	34,2 34,6	34,4	40	27,5	0,5091	75,6	73,6	1,42	600	591,8	254,47
	N. + 0,05 % Rz.	35,1 34,8	34,95				75,05	73,05	1,32		592,08	252,24
	N. + 0,5 % Rz.	15,3 15,7	15,5	30	21,15	0,6572	47,95	46,45	1,18	500	494,1	247,59
	N. + 0,1 % Glyc.	25,1 25,5	25,3	40	27,5	0,5091	84,7	82,7	1,77	600	589,48	287,26
	N. + 0,5 % Glyc.	31,3 31,2	31,25		21,15	0,6572	53,35	51,85	2,50		585,0	236,44
	N. + 1,0 % Glyc.	13,0 12,6	12,8	30			50,65	49,15	1,40		591,6	220,9
	N.+0,5 % Essigs.-K.	11,6 11,7	11,65				51,8	50,3	1,35		591,9	225,93
	N.+1,5 % Essigs.-K.	16,0 16,1	16,05				47,4	45,9	1,52		590,88	206,6
No. 15 p. 415. Nach 21 Tagen	N.	27,3 27,3	27,3	20	25,95	0,5395	24,6	22,1	1,21	300	296,37	162,9
	N. + 0,05 % Laktose	26,8 26,8	26,8				25,1	22,6	1,18		296,46	166,5
	N. + 0,2 % Laktose	24,2 24,1	24,15				27,75	25,25	1,21		296,37	186,0
	N. + 0,5 % Laktose	28,4 28,2	28,3				23,6	21,1	1,15		296,55	155,3

Nitrifikationsversuche im Lehmboden mit verschiedenen organischen Stoffen.

No. der Analyse und Textseite	Ammoniak (N)-Zugabe = Zugabe von organischer Substanz	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	mg Nitrat-N pro kg trockener Erde
No. 16 p. 415. Nach 21 Tagen	N.	24,9 24,5	24,7	20	25,95	0,5395	27,2	24,7	1,19	300	296,43	182,0
	N. + 0,05 % buttersaurem K.	23,4 25,0	24,2				27,7	25,2	1,19		296,43	185,6
	N. + 0,2 % buttersaurem K.	21,9 23,5	22,7				29,2	26,7	1,19		296,43	196,7
	N. + 0,5 % buttersaurem K.	23,8 24,8	24,2				27,2	25,2	1,19		296,43	185,6
No. 17 p. 416. Nach 19 Tagen	N.	20,4 19,5	19,95	20	24,7		29,45	26,95	0,957	400	396,17	152,13
	N. + 0,75 % Harnstoff	42,2 40,8	41,55				7,85	5,35	0,9		396,4	30,06
	N. + 2,25 % Harnstoff	42,3 43,4	42,85				6,55	4,05	0,95		396,2	22,94
	N. + 0,5 % Pepton	35,6 36,2	35,9				13,5	11,0	0,93		396,3	62,01
	N. + 2,0 % Pepton	45,0 45,6	45,3				4,1	1,06	1,06		395,76	9,10
No. 18 p. 416. Nach 26 Tagen	N.	24,3 23,8	24,05	30	24,7		50,05	47,55	0,62	400	397,5	271,5
	N. + 0,75 % Harnstoff	21,7 21,9	21,8	10	27,2		5,4	2,9	0,61		397,56	15,04
	N. + 2,25 % Harnstoff	22,4 23,2	22,8				4,4	1,9	0,60		397,6	9,85
	N. + 0,5 % Pepton	12,4 12,8	12,6		24,7		12,1	9,6	0,62		397,5	54,8
	N. + 2,0 % Pepton	17,8 18,5	18,15				6,55	4,05	0,70		397,2	23,15

Versuch mit Nitratbildnern.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrat-N in mg in Probe	Mittel für die beiden Proben	Multiplikator	Nitrat-N in mg pro Kolben	$\log T \times \frac{1}{p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 19 p. 420	N. ungeimpft	3,9 3,9	17,0	742,0	2,25 2,25	2,25	4	9,00	06040	70031
	1. N.-Kontrolle	6,25 6,6	15,0 13,0	751,2 749,9	3,67 3,89	3,78		15,12	07104 06877	
	2. N.-Kontrolle	5,7 5,6	14,0 13,0	741,2	3,32 3,27	3,295		13,18	06446 06598	
	1. N. + 0,05 % D.	10,3 10,5	16,0	743,8	5,97 6,09	6,03		24,12	06295	
	2. N. + 0,05 % D.	10,0 10,3	16,0	743,3	5,79 5,97	5,88		23,52	06266	
	1. N. + 0,2 % D.	7,7 8,0	16,0	742,0	4,45 4,61	4,53		18,12	06190	

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Bestimmung	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit- bezw. Nitrat-N in Probe	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit- bezw. Nitrat-N in 1 Kolben	$\log T \times \frac{1}{p}$	log Faktor NO + log N/NO
400 g	1. N.	Nitrit	verschwunden								
Sand +		Nitrat	11,4	18,0	748,4	6,60	6,475	6	38,85	06263	70 031
50 ccm			11,0			6,37					
Nährlös.	2. N.	Nitrit	3,2	18,0	747,4	1,85	1,825		10,95	06205	
No. 20			3,1	17,0		1,80				06355	
p. 485		Nitrat	7,6	18,0		4,40	4,63		27,78	06205	
			8,4	17,0		4,86				06355	
	3. N.	Nitrit	2,4	17,0	752,0	1,40	1,40		8,40	06622	
			2,4			1,40					
		Nitrat	9,2			5,38	5,38		32,28		
	1. N. + 0,2 % D.	Nitrit	0,7	18,0	748,4	0,406	0,464		2,784	06263	
			0,9			0,521					
		Nitrat	10,9	17,0		6,34	6,31		37,86	06413	
			10,8			6,28					
	2. N. + 0,2 % D.	Nitrit	0,6	20,0	747,4	0,345	0,379		2,274	05097	
			0,7			0,402					
		Nitrat	0,8	16,0	752,4	5,75	5,81		34,86	06795	
			10,0			5,87					
150 g	1. N.	Nitrit	8,6	19,0	747,4	4,96	5,05		30,30	06056	
Sand +			8,9			5,13					
50 ccm		Nitrat	2,7	17,0		1,56	1,45		8,70	06355	
Nährlös.			2,3			1,34					
	2. N.	Nitrit	8,9	18,0	746,6	5,14	5,21		31,26	06159	
			9,1	17,0	747,9	5,28				06384	
		Nitrat	2,5	18,0	746,6	1,44	1,39		8,34	06159	
			2,3	17,0	747,9	1,34				06384	
	1. N. + 0,2 % D.	Nitrit	8,4	18,0	746,6	4,86	4,92		29,52	06159	
			8,6			4,97					
		Nitrat	1,6	13,0		0,941	0,965		5,79	06913	
			1,7	16,0		0,989				06459	
	2. N. + 0,2 % D.	Nitrit	9,1	18,0	746,6	5,26	5,19		31,14	06159	
			8,8	17,0	747,4	5,11				06355	
		Nitrat	1,7	18,0	746,6	0,983	1,05		6,30	06159	
			1,9	16,0	747,4	1,11				06505	
50 ccm	1. N.	Nitrit	9,6	19,0	743,0	5,50	5,65		33,90	05800	
Nährlös.			10,1			5,79					
		Nitrat	1,5			0,86	0,832		4,99		
			1,4			0,803					
	1. N. + 0,2 % D.	Nitrit	12,7	18,0		7,31	7,58	4	30,32	05949	
			13,7			7,85					
		Nitrat	1,7	19,0		0,975	1,03		4,12	05800	
			1,9	18,0		1,09				05949	

Flüssigkeitskulturen.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Bestimmung	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit- bezw. Nitrat-N in Probe	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit- bezw. Nitrat-N in 1 Kolben	$\log T \times \frac{1}{p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 21	1. N.	Nitrit	5,9	19,0	750,9	3,42	3,42	4	13,68	06259	
p. 486			5,9			3,42					
Nach		Nitrat	10,7			6,98	6,14		24,56		
10 Tagen			10,5			6,083					
	2. N. + 0,05 % D.	Nitrit	8,5	17,0	753,6	4,976	4,74		18,96	06714	
			7,7			4,508					
		Nitrat	7,6			4,45	4,42		17,68		
			7,5			4,39					

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Bestimmung	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit- bezw. Nitrat-N in Probe	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit- bezw. Nitrat-N in 1 Kolben	$\log T \times \frac{1}{p}$	log Faktor NO + log N/NO
	Sandkulturen.										
No. 21	N.	Nitrit	verschwunden								
p. 486		Nitrat	16,4	19,0	753,6	9,535	9,36		37,44	06415	
Nach			15,8			9,186					
10 Tagen	N. + 0,05 % D.	Nitrit	verschwunden								
		Nitrat	16,0	19,0	753,6	9,302	9,42		37,68		
			16,4			9,535					
	N. + 0,2 % D.	Nitrit	9,0	20,0	753,6	5,214	5,24		20,96	06266	
			9,1			5,272					
		Nitrat	6,4	18,0	756,2	3,75	3,66		14,64	06714	
			6,1			3,57					
	Sandkulturen.										
No. 22	N.	Nitrit	13,8	18,0	754,4	8,04	8,03	4	32,12	06570	
p. 487			13,75		753	8,02				06529	
Nach		Nitrat	65,9	20,0	754,4	39,11	38,96		155,84	06312	
16 Tagen			66,9			38,80					
	N. + 0,05 % D.	Nitrit	12,6	18,0	753,0	7,36	7,11		28,44	06529	
			11,8	19,0		6,85				06380	
		Nitrat	70,0	18,0		40,8	40,3		160,6	06529	
			68,5	19,0		39,8				06380	
	N. + 0,5 % D.	Nitrit	18,3	19,0		10,63	10,75		43,0		
			18,9	22,0		10,87				05935	
		Nitrat	2,4	19,0		1,39	1,47		5,88	06380	
			2,7	22,0		1,55				05935	
No. 23	1. N.-Kontrolle	Nitrit	3,1	14,0	752,3	1,83	2,01	6	12,06	07091	70031
p. 487			3,7			2,19					
Nach		Nitrat	6,3			3,72	3,66		21,96		
5 Tagen			6,1			3,60					
	2. N.-Kontrolle	Nitrit	5,2		753	3,07	3,01	4	12,04		
			5,0			2,95					
		Nitrat	10,0			5,91	6,03		24,12		
			10,4			6,15					
	3. N.-Kontrolle	Nitrit	1,6	12,0	754	0,954	0,924		3,70		
			1,5			0,894					
		Nitrat	13,3	13,0		7,90	7,93		31,72		
			13,4			7,96					
	1. N. + 0,05 % D.	Nitrit	3,0	14,5	752,3	1,768	1,77	6	10,62	07015	
			3,0	14,0		1,772				07091	
		Nitrat	6,7	14,5		3,95	3,925		23,55	07015	
			6,6	14,0		3,90				07091	
	2. N. + 0,05 % D.	Nitrit	7,3	15,0		4,30	4,335	4	17,34	06980	
			7,4			4,37					
		Nitrat	7,8	16,0		4,58	4,64		18,56	06829	
			8,0			4,70					
	3. N. + 0,05 % D.	Nitrit	verschwunden								
		Nitrat	15,0	14,0	753	8,87	9,075		36,300	07131	
			15,7			9,28					

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Bestimmung	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit- bezw. Nitrat-N in der Probe	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit- bezw. Nitrat-N in mg pro Kolben	log Faktor $\frac{1}{T \times p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 24	400 g Sand + 50 ccm Nährlösung.										
p. 488	1. N.	Nitrit	4,2	16,0	750,7	2,46	2,695	4	10,78	06697	70031
			5,0			2,93					
		Nitrat	9,5			5,56	5,56		22,24		
			9,5			5,56					
	1. N. + 0,02 % D.	Nitrit	1,6	13,0	749,0	0,944	0,912		3,65	07052	
			1,5	15,0		0,879				06749	
		Nitrat	11,2	13,0		6,61	6,645		26,58		
			11,4	15,0		6,68					
	2. N. + 0,02 % D.	Nitrit	2,5	13,0	749,6	1,48	1,625		6,50	07087	
			3,0			1,77					
		Nitrat	12,4			7,33	7,12		28,48		
			11,7			6,91					
Nach 8 Tagen	1. N. + 0,2 % D.	Nitrit	9,4	17,0	749,0		5,47		21,88	06448	
			—								
		Nitrat	4,2			2,44	2,52		10,88		
			4,4	13,0	750,0	2,60				07110	
	2. N. + 0,2 % D.	Nitrit	3,8	15,0	749,6	2,23	2,435		9,74	06784	
			4,5			2,64					
		Nitrat	10,4			6,10	6,04		24,16		
			10,2			5,98					
	250 g Sand + 50 ccm Nährlösung.										
	1. N.	Nitrit	1,6	12,0	743,2	0,94	0,995		3,98	06867	
			1,8	13,0	742,5	1,05				06673	
		Nitrat	11,5	12,0	743,2	6,76	6,655		26,62		
			10,95	13,0	742,5	6,55					
	2. N.	Nitrit	3,7	16,0	749,0	2,16	2,295		9,18	06598	
			4,1	12,0		2,43				07204	
		Nitrat	8,8	16,0		5,14	5,305		21,22	06598	
			9,3	14,0		5,47				06900	
	1. N. + 0,02 % D.	Nitrit	verschwunden								
		Nitrat	14,4	13,5	749,5	8,49	8,78		35,12	07005	
			15,4			9,07					

Versuch mit Nitritbildnern.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit-N in Proben in mg	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit-N pro Kolben	log Faktor $\frac{1}{T \times p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 25	Flüssigkeitskulturen									
p. 489	N.	2,2	19,0	752,0	1,276	1,517	3	4,55	06323	70931
Nach		3,0	16,0		1,758				06772	
13 Tagen	N. + 0,02 % D.	0,8	16,0		0,4689	0,525		1,57	06772	
		1,0	19,0		0,5802				06323	
	Sandkulturen									
	N.	2,8	17	752,0	1,6367	1,5485	4	6,19	06622	
		2,5			1,4604					
	N. + 0,02 % D.	1,1			0,6426	0,6426		2,57		
		1,1			0,6426					

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrit-N in Proben in mg	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrit-N pro Kolben	log Faktor $\frac{1}{T \times p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 26 p. 489 Nach 20 Tagen	Flüssigkeitskulturen									
	N.	1,4	21,0	745,2	0,799	0,942	4	3,78	05934	
		1,9			1,085					
	N. + 0,02 % D.	0,7	23,0		0,397	0,368		1,47	05337	
		0,6			0,340					
	Sandkulturen									
	N.	10,2	18,0	748,3	5,908	5,966		23,86	06257	
		10,4			6,024					
	N + 0,02 % D	13,5	20,0		7,766	7,766		31,06	0959	
		13,5			7,766					
	N. + 0,2 % D.	0,6		747,2	0,344	0,431		1,72	05896	
		0,9			0,518					
No. 27 p. 489 Nach 20 Tagen	Flüssigkeitskulturen									
	N.	1,6	19,0	745,2	0,919	0,945	4	3,78	05929	
		1,7	21,0		0,971				05632	
	N. + 0,02 % D.	0,7		750,6	0,407	0,407		1,628	06391	
		0,7	18,0		0,407					
	Sandkulturen									
	N.	10,8	16,0	747,2	6,29	6,347		25,39	06494	
		11,1	18,0	745,2	6,403				06078	
	N. + 0,02 % D.	13,3	18,0	747,2	7,693	7,664		30,66	06194	
		13,2	18,0		7,635					
	N. + 0,2 % D.	2,5	18,0	745,2	1,442	1,461		5,84	06078	
		2,6	22,0		1,480				05484	
No. 28 p. 489 Nach 29 Tagen	Flüssigkeitskulturen									
	N.	4,6	18,0	749,0	2,667	2,667	4	10,67	06298	70031
		4,6			2,667					
	N. + 0,02 % D.	1,3	18,0	749,0	0,754	0,754		3,02		
		1,3			0,754					
	Sandkulturen									
	N.	15,8	18,0	750,0	9,173	9,205		36,820	06356	
		15,8	16,0		9,237				06656	
	N. + 0,02 % D.	16,8	16,0		9,822	9,954		39,82		
		17,3	18,0		10,086				06356	
No. 29 p. 490 Nach 13 Tagen	N.	4,3	21,0	749,1		2,554	4	10,22		
		4,6								
	N. + 0,02 % D.	6,3	19,0			3,554		14,22		
		6,0								
	N. + 0,1 % D.	4,8	21,0			2,870		11,48		
		5,2								

Versuch über CO_2-Assimilation beim Nitratbildner.

No. der Analyse und Textseite	No. der Kultur	NO in ccm aufgefangen	Temperatur	Barometerstand	Nitrat-N in mg in der Probe	Mittel der beiden Proben	Multiplikator	Nitrat-N in Kolben	log Faktor $\frac{1}{T \times p}$	log Faktor NO + log N/NO
No. 30 p. 493	1.	28,8	15,0	737,1	16,61	16,95	20	339,0	06054	70 031
		30,0	15,0		17,30					
	2.	45,8	10,0	759,0	27,67	27,38	$\frac{40}{3}$	365,1	08087	
		45,0	11,0		27,09				07933	
	3.	45,9	10,0	759,0	27,73	27,55	$\frac{40}{3}$	367,3	08087	
		45,3			27,37					
	4.	27,0	10,0	737,2	15,84	15,93	20	318,6	06822	
		27,3			16,02					

No. der Analyse und Textseite	No. der Kultur	Gewicht der aufgefangenen Kohlensäure in mg	Mitte für die beiden Proben in mg	Multiplikator	Gewicht der organischen Kohlensäure in Kultur in mg	Dasselbe nach Abzug für die Nährlösung in mg	Gewicht des organischen Kohlenstoffs in der Kultur in mg
No. 31 p. 493	Kontrolle	9,0 8,0	8,5	2,5	21,25		
	1.	12,4 13,5	12,95	4,0	51,8	30,55	8,33
	2.	11,0 10,0	10,5		42,0	20,75	5,66
	3.	9,8 11,0	10,4		41,6	20,35	5,55
	4.	12,0 11,5	11,65		47,0	25,75	7,19

Durchlüftungsversuch mit Nitratbildnern.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben von Ammoniak (N.) und Dextrose (D.)	Bestimmung	NO in ccm aufgefangen	Mittel der beiden Proben	Temperatur	Barometerstand	Nitrit- bezw. Nitrat-N in Probe	Multiplikator	Nitrit- bezw. Nitrat-N in Kolben
No. 32 p. 495	N.	Nitrit	6,8 6,8	6,8	13,0	757,3	4,056	4	16,22
		Nitrat	8,1 7,3	7,7			4,59		18,36
	N. + 0,05 % D.	Nitrit	2,0 1,8	1,9			1,13		4,52
		Nitrat	13,0 12,6	12,8			7,635		30,54

Einfluß des CS_2 auf die Nitrifikation im Boden.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben Ammoniak (N.) und CS_2	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge		Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde
		ccm	Mittel in ccm									
No. 33 p. 498	Am Anfang ohne Zusatz (2 Proben)	10,0 9,2	9,6	10	25,7	0,5447	16,1	13,6	15,97	500	420,15	73,35
		10,0 10,5	10,3				15,4	12,9				69,57
											Mittel	71,45
No. 34 p. 498 Nach 3 Wochen	N.	14,7 14,5	14,6	50	27,0	0,5185	120,4	117,9	16,46	1000	835,35	316,82
	N. + CS_2	30,0 29,6	29,8	20			24,2	21,7	16,91		831,88	58,68
No. 35 p. 498 Nach 5 Wochen	N.	2,9 3,7	3,4	70	27,0	0,5185	185,6	183,1	17,96	1000	821,4	503,88
	N. + CS_2	30,6 30,8	30,7	20			23,3	20,8	18,2		818,0	57,54

No. der Analyse und Textseite	Zugaben Ammoniak (N.) und CS_2	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge ccm	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge Mittel in ccm	Vorlage in ccm N/01 Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde
No. 36 p. 498 Nach 7 Wochen	N.	3,5 2,9	3,2	70	27,6	0,5072	190,0	187,5	18,92	1000	810,8	501,91
	N. + CS_2	20,3 20,2	20,25	20			34,95	32,45	18,90		811,0	88,85
No. 37 p. 498 Nach 9 Wochen	N.	4,0 5,1	4,55	70	26,1	0,5364	177,15	174,65	19,875	1000	801,25	514,16
	N. + CS_2	15,4 14,6	15,0				167,7	165,2	19,95		800,49	486,97
No. 38 p. 498 1 Woche nach neuem Zusatz	N.	16,8 15,4	16,1	100	55,6		239,9	237,4	16,3	1000	837,0	699,84
	N. + CS_2	10,3 10,4	10,35	110			271,05	268,55	16,04		839,6	788,28
No. 39 p. 499	Erde I.	19,6 19,2	19,4	10	26,0[1])		8,6	7,8	14,19	1000	858,1	21,77
	Anfang II.	18,8 19,0	18,9				9,1	7,3				23,17
											Mittel	22,47
No. 40 p. 499 Nach 1 Woche	N.	18,1 17,7	17,9	10	25,3[2])	0,5103	7,4	6,6	13,34	1000	866,6	17,62
	N. + CS_2	18,9	18,9				6,4	5,6	13,59		864,1	15,02
	ohne N. ohne CS_2	18,2 18,2	18,2				7,1	6,3	13,23		867,7	16,78
	ohne N. + CS_2	18,4 18,5	18,45				6,85	6,05	14,17		858,3	16,43
No. 41 p. 499 Nach 2 Wochen	N.	17,5 17,2	17,35	10	25,3[2])	0,5103	7,95	7,15	13,29	1000	867,1	19,06
	N. + CS_2	18,5 18,5	18,5				6,8	6,0	13,00		870,0	15,91
	ohne N. ohne CS_2	17,6 17,5	17,55				7,75	6,95	10,34		896,6	17,46
	ohne N. + CS_2	18,5 19,0	18,75				6.55	6,75	13,57		864,3	18,10
No. 42 p. 499 Nach 3 Wochen	N.	13,0 12,6	12,8	10	25,3[2])	0,5103	12,5	11,7	13,36	1000	866,4	31,25
	N. + CS_2	20,8 21,1	20,95				4,35	3,55	14,43		855,7	9,68
	ohne N. ohne CS_2	18,1 17,4	17,75				7,55	6,75	13,16		868,4	17,95
	ohne N. + CS_2	21,1 22,1	21,1				4,2	3,4	14,67		853,3	9,11

1) Säure nicht genau N/10, 10 ccm N/10 Bernsteinsäure = 26,7 der Lauge.
2) Säure nicht genau N/10, 10 ccm N/10 Bernsteinsäure = 27,5 der Lauge.

No. der Analyse und Textseite	Zugaben Ammoniak (N) und CS_2	Zum Zurücktitrieren verbrauchte Lauge ccm	Mittel in ccm	Vorlage in ccm $N/_{10}$ Säure	10 ccm Säure = ccm Lauge	1 ccm Lauge = mg N	Ueberdestilliertes NH_3 in ccm der Lauge	Dasselbe nach Abzug für die Reagentien	Proz. der Feuchtigkeit	Gewicht der Erdprobe	Gewicht der Erdprobe nach Austrocknen	Nitrat-N in mg pro Kilo trockener Erde
No. 43 p. 499 Nach 4 Wochen	N.	7,6 6,4	7,0	20	27,3		47,6	46,8	15,91	1000	840,9	123,2
	N. + CS_2	21,3 21,3	21,3	10			6,0	5,2	15,61		843,9	13,6
	ohne N. ohne CS_2	17,3 17,5	17,4				9,9	9,1	15,16		848,4	23,7
	ohne N + CS_2	21,2 30,9	21,05				6,25	5,45	15,97		840,2	14,4
No. 44 p. 499 Nach 5 Wochen	N.	12,3 11,1	11,7	60	27,3		152,1	151,3	17,09	1000	829,1	406,4
	N. + CS_2	21,1 21,4	21,25	10			6,05	5,25	16,86		831,4	14,05
	ohne N. ohne CS_2	16,6 16,4	16,5				10,8	10,0	16,86		831,4	26,8
	ohne N. + CS_2	21,3 21,2	21,25				6,05	5,25	16,65		833,5	13,7
No. 45 p. 499 Nach 7 Wochen	N.											
	N. + CS_2	111,0 111,8	111,4	50	25,6		16,6	15,8	14,78	1000	852,2	43,46
	ohne N. ohne CS_2	12,6 12,2	12,4	10	24,9		12,5	11,7	14,02		859,8	31,9
	ohne N. + CS_2	18,6 18,1	18,35				6,55	5,75	15,17		848,3	18,2
No. 46 p. 499 Nach 8 Wochen	N.	7,9 8,9	8,4	100	25,45		246,1	245,3	15,23	1000	847,7	667,2
	N. + CS_2	71,5 72,6	72,05	50			55,2	54,4	14,86		851,3	150,2
	ohne N. ohne CS_2	10,9 10,9	10,9	10	25,6		14,7	13,9	15,18		848,1	38,5
	ohne N. + CS_2	17,2 16,8	17,0				8,6	7,8	14,98		850,2	21,5
No. 47 p. 499 Nach 9 Wochen	N.[1])	13,5 12,2	12,75	60	24,9		136,65	135,85	14,61	1000	853,9	746,9
	N. + CS_2 [1])	10,3 10,3	10,3	20			39,5	38,7	14,45		855,5	216,6
	ohne N. ohne CS_2	10,9 11,0	10,95	10			13,95	13,15	14,47		855,3	36,1
	ohne N. + CS_2	15,7 15,3	15,5				9,4	8,6	12,95		870,5	23,6

1) Bei diesen beiden Bestimmungen wurden für jede Auszugsprobe nur 250 ccm des Bodenauszuges anstatt der gewöhnlichen 500 ccm genommen.

Nachdruck verboten.

Ueber den mikrobiochemischen Prozess der Ammonisation im Ackerboden.

Von Dr. **R. Perotti,**

Assistenten am kgl. landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium zu Rom.

Laboratoriums- und Versuchsfeldsuntersuchungen, welche von anderen und von mir in der letzten Zeit angestellt worden sind, haben gezeigt, daß von den beiden Hauptprodukten, welche die Grundlage der Düngung mit Kalkstickstoff bilden — dem Calciumcyanamid und dem Dicyandiamid — unter den gewöhnlichen Kulturbedingungen das erste ammonisiert wird, das zweite dagegen nicht, und daß sogar für die Verwertung des ersten die Ammonisation unerläßlich ist, da es sich sonst wie ein starkes Gift den Pflanzen gegenüber verhält (1).

Der Prozeß, durch welchen der Calciumcyanamidstickstoff in Ammoniakstickstoff übergeführt wird, ist, wenn auch nicht ausschließlich, ein biochemischer Vorgang. Löhnis hat dies als erster mittels Methoden studiert, welchen es nicht an Mängeln fehlt (1a). Ich fand dieselben bei einer Prüfung seiner Arbeit und suchte dabei festzustellen, bis zu welchem Grade sie seine Schlußfolgerungen beeinträchtigen könnten (2). Aus meiner Kritik und aus meinen Untersuchungen, die einen neuen Weg eingeschlagen haben, ist hervorgegangen, daß die Erscheinung der bakteriellen Ammonisation des Calciumcyanamides ein ganz deutlicher Vorgang ist, für den erst kürzlich Ashby (3) eine weitere Bestätigung erhalten hat.

Studiert man die Kurven der Ammoniakbildung aus Calciumcyanamid, so erkennt man mit Leichtigkeit, daß sie einen sehr unregelmäßigen Verlauf haben, der es nicht erlaubt, dem Vorgange den Wert einer Fermentation beizulegen, und zwar vor allen Dingen, weil er nur durch eine Umwandlung erheblicher Mengen dynamogenetischen Materiales bedingt wird. Man muß auch noch hinzufügen, daß die Verbindung in sich chemische Verbindungen besitzt, welche wir nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen nicht als leicht geeignet für eine respiratorische Verbrennung halten können. Alsdann wird sich mit Leichtigkeit die Notwendigkeit zeigen, dem in Rede stehenden Vorgange eine wissenschaftliche Deutung zu geben, welche sich mit unseren Kenntnissen über die funktionellen Tätigkeiten verträgt, die ein Organismus zu entfalten imstande ist.

Bisher ist der Ammoniakbildungsprozeß, welcher sich im Boden vollzieht und den letzten Teil des Kreislaufes bildet, den die organischen Substanzen bei ihrer Mineralisierung zu durchlaufen haben, ausschließlich als ein einem Gärungsprozesse entsprechender Vorgang betrachtet worden, welcher durch die Bodenmikroorganismen bedingt ist, die zum größten Teile ihre notwendige Energie indirekt durch die Zerstörung der Karbonate gewinnen. Die faulige Gärung bildete die Grundlage des Prozesses; es handelt sich hier um eine zusammengesetzte Erscheinung, von welcher weder alle Phasen noch die primären Produkte genau bekannt sind. Der Ammoniak bildet sich indessen konstant bei dem Prozesse, und

zwar durch die Wirkung von Bakterien, Schimmelpilzen und Blastomyceten, wie Marchal, Wiley (4), Wehmer (5), Butkewitsch (6) und Emmerling (7) bei ihren nach dieser Richtung hin angestellten Untersuchungen mit Eiweißsubstanzen verschiedener Natur (Wittes Pepton) festgestellt haben. Für unsere Frage interessieren uns hier die Resultate Emmerlings, aus welchen hervorgeht, daß im Gegensatze zu dem Verhalten der Diaminosäuren alle wichtigen Monoaminosäuren, mit Ausnahme des Leucins und Phenylalanins, bei dem Fäulnisprozesse in Ammoniak umgewandelt werden können.

Aber diese Kenntnisse, die wir über den Gegenstand in leider nur zu beschränktem Maße besitzen, klären uns weder über das eigentliche Wesen der Erscheinung auf, noch können sie zur Erklärung der bakteriellen Ammonisation des Calciumcyanamides herangezogen werden, das eine eigentümliche chemische Konstitution und alle Eigenschaften einer eminent giftigen Substanz besitzt. Dieser Umstand hat mir Gelegenheit gegeben, von einem besonderen Falle zu einigen Betrachtungen allgemeiner Natur über den Ammoniakbildungsprozeß im Erdboden zu gelangen, um eine neue Ursache desselben zu beleuchten, welche gerade jetzt gebührend betrachtet werden muß, wo man nach Aufgabe einiger Vorurteile aus neuen Stickstoffquellen bei der Düngung Nutzen ziehen will.

In meinem besonderen Falle also haben wir als übereinstimmendes Resultat zahlreicher Untersuchungen zwei Substanzen, nämlich eine, das Calciumcyanamid, das stark giftig ist und trotzdem durch einen biochemischen Prozeß ammonisiert wird, und eine andere, das Dicyandiamid, das nicht giftig ist und nicht ammonisiert, ja sogar von nicht wenigen Organismen direkt verwandt wird. Die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens, welche in den verschiedenen Eigenschaften der beiden Verbindungen gesucht werden, liegen — meiner Ansicht nach — in der stark giftigen Wirkung der ersten Substanz. In der Tat ließ sich durch eine nicht geringe Zahl von Beobachtungen feststellen, daß, wenn eine Pflanze sich in Gegenwart eines giftigen, der Zusammensetzung ihres eigenen Organismus fremden Elementes befindet oder wenn irgend einer ihrer Bestandteile eine so große Menge erreicht, daß er dadurch giftig wird, daß dann die Pflanze ihn mit großer Leichtigkeit entfernt, und zwar entweder durch Abtrennung bestimmter Organe, in denen er sich anhäuft, oder durch Entfaltung einer besonderen autolytischen Wirkung. So wurde z. B. konstatiert, daß die Kupfersalze, die von der Pflanze resorbiert worden sind, in einigen Blättern angehäuft werden, die sie dann abfallen läßt, und es zeigte sich auch, daß die Pflanze imstande ist, die Stickstoffverbindungen, die sich in ihr eventuell bis zu einer schädlich wirkenden Menge anhäufen, zu entfernen, indem sie dieselben in Ammoniak umwandelt.

Ueber die autolytische Bildung des Ammoniaks in der Pflanze haben wir eine Reihe von Arbeiten, welche deren Ursachen, Mechanismus und Bedeutung festzustellen suchen. Neben den Untersuchungen von Schulze (8) und Castoro (9), welche als erste die Ammoniakbildung während des Keimens einiger Pflanzen feststellen, und neben denjenigen von Butkewitsch, in welchen dieselbe Erscheinung während der Anästhetisierung der Keime mittels Aether und Toluol eintritt, müssen wir an die Versuche von Hirschler (10), Kutscher (11), Zuntz (12) und Cohnheim (13) erinnern, welche die Ammoniakbildung bei dem Abbau der albuminoiden Substanzen mittels proteolytischer Enzyme zeigen;

diese Experimente würden einen Beitrag zu einer enzymatischen Erklärung der Erscheinung liefern. Besser passen zu unserem Falle die Untersuchungen von Gonnermann (14), Lang (15) und Schibata (16), welche die Bildung von Ammoniak aus den Aminosäuren bei der Autodigestion mit tierischen Organen und mit Pilzen erzielten, wodurch auch die Frage, ob sich das Ammoniak direkt aus den Albuminoiden oder ihren primären Dekompositionsprodukten bildet, etwas aufgeklärt werden könnte. Allerdings vermochte Zaleski (17) auch in einer jüngst veröffentlichten Untersuchung nicht über diesen Punkt irgendwelche Klarheit zu verschaffen, hinsichtlich dessen man noch immer auf die Hypothese von Schulze (18) angewiesen ist, der die Bildung von Ammoniak auf Kosten der primären Produkte annimmt. Auch keinen größeren Wert als den einer Hypothese hat die Bedeutung, die man dem in dieser Weise produzierten Ammoniak bei der Synthese des Asparagins, des Glutamins und der Eiweißsubstanz beilegen will, obgleich sie durch die Arbeiten von Mazé (19), Treboux (20) und Artari (21) stark gestützt wird. Jedenfalls ist sicher bewiesen, daß der pflanzliche Organismus imstande ist, eine autolytische Ammoniakbildung vor sich gehen zu lassen, was meiner Ansicht nach in dem Falle der bakteriellen Ammonisation des Calciumcyanamides der Fall ist. Da das Calciumcyanamid giftig ist, so würden die Mikroorganismen, welche durch besondere lokale Umstände oder infolge spezifischer Resistenz dem Tode entgehen, an dem Calciumcyanamid ihre autolytische Tätigkeit entfalten; da das Dicyandiamid unschädlich ist, so würde die biologische Veranlassung zur Entfaltung dieser Tätigkeit fehlen.

Da aber die giftige Wirkung einer bestimmten chemischen Verbindung abgesehen von ihrer chemischen Zusammensetzung auch von ihrer Konzentration abhängt, so wurde ich — um meiner Theorie eine experimentelle Stütze zu geben — zu der Untersuchung veranlaßt, ob auch das Dicyandiamid bei Erhöhung seiner Konzentration ammonisiert würde. Die Resultate, die ich in dieser Hinsicht erhalten habe, waren positiv.

Ich bin in folgender Weise vorgegangen:

In vier großen Erlenmeyerschen Kolben präparierte ich 300 ccm der stickstofffreien Minerallösung:

Kaliumphosphat	1,0	Natriumchlorid	0,1
Calciumchlorid	0,1	Eisenchlorid	0,01
Magnesiumsulfat	0,3	Wasser	1000

der ich 0,5 Proz. Traubenzucker hinzufügte. Dann setzte ich zu den vier Lösungen im Verhältnisse von je 0,1, 1, 5 und 10 Proz. reinstes Dicyandiamid hinzu. Die letzte Lösung war dann mit Dicyandiamid gesättigt.

Den Ammoniakstickstoff in den Lösungen bestimmte ich am Anfange und am Ende des Versuches nach der Methode der Destillation über Magnesia usta.

Ich impfte die Lösungen mit 0,1 g ein und derselben Probe guter Gartenerde und hielt sie dann im Thermostaten bei 28° C 20 Tage lang.

Die Analysenergebnisse waren folgende:

(Siehe Tabelle p. 517.)

No. der Kultur	Konzentration an $C_2N_4H_4$ Proz.	Angabe der Bestimmung	Kulturflüssigkeit ccm	Neutralisation von $^1/_{10}$ Norm. H_2SO_4-Lösung mit ccm	NH_3 Proz.	Verhältnis zwischen dem Anfangs- und End-NH_3-Gehalt
I	0,1	im Anfange	50,0	0,3	0,0102	2,33
		nach 20 Tagen Kultur	50,0	0,7	0,0238	
II	1	im Anfange	50,0	0,5	0,0170	10,51
		nach 20 Tagen Kultur	50,0	**5,2**	**0,1788**	
III	5	im Anfange	25,0	0,5	0,0340	8,30
		nach 20 Tagen Kultur	50,0	**8,3**	**0,2822**	
IV	gesättigt	im Anfange	25,0	0,6	0,0408	3,16
		nach 20 Tagen Kultur	50,0	**3,8**	**0,1292**	

Um diese Daten noch deutlicher zu machen, nahm ich auch einige kulturelle Beobachtungen vor. Nach fünftägiger Kultur begannen die makroskopischen Merkmale der bakteriellen Entwickelung nur in dem Kolben 1 und 2 aufzutreten, und zwar reichlicher in dem 2. Kolben, wo sich schon vom 6. Tage an eine reichliche Hyphomycetenbildung bemerkbar machte. In den anderen beiden Kolben war die Entwickelung spärlich; deutlich war sie jedoch auch in dem vierten, wo sich ein Pilzrand an den Glaswänden in der Höhe der Flüssigkeitsoberfläche gebildet hatte. Sicherlich waren die besten Kulturbedingungen in dem Kolben 2 vorhanden, in welchem die Flüssigkeit sich immer sehr trübe zeigte und an deren Oberfläche sich eine Decke von Schimmelpilzen bildete, die sehr langsam Sporen bildeten. Uebrigens ist die Entwickelung in dem Kolben 3 und vor allem in dem Kolben 4 bemerkenswert, wo das Dicyandiamid in gesättigter Lösung enthalten war.

In besonderer Weise kann man auf Grund der mit diesen Kulturen erhaltenen Resultate selbst unter Berücksichtigung des augenscheinlichen Ammoniakverlustes aus den Rezipienten erkennen, daß selbst unter außerordentlich ungünstigen Kulturbedingungen die Bakterien- und Hyphomycetenorganismen imstande sind, ihre autolytische Tätigkeit zu entfalten. Die experimentelle Reproduktion des Vorganges durch Steigerung der Quantitäten einer Verbindung, die wie das Dicyandiamid in verdünnten Lösungen nicht giftig ist und normalerweise nicht ammonisiert wird, kann meiner Meinung nach in gewisser Beziehung eine Erklärung der biochemischen Ammonisation liefern, welche sich indessen normalerweise bei dem Calciumcyanamid vollzieht, das noch in ganz verdünnten Lösungen giftige Eigenschaften hat. Meiner Ansicht nach muß dieser Vorgang der Ammoniakbildung aus stickstoffhaltigen Verbindungen, welche man ihrer giftigen Eigenschaften wegen bis jetzt für ungeeignet zum Gebrauche als Ackerbodendüngungsmaterial ansehen wollte, sowohl bei den Prozessen ihrer Umwandlung in für die Pflanzen assimilierbare Verbindungen als auch bei der Feststellung der Normen ihrer direkten praktischen Verwendung in gebührender Weise berücksichtigt werden.

Literatur.

1) Perotti, R., Intorno all' azione concimante della diciandiamide. (Rend. Soc. Chimica di Roma. Anno V. No. 7.)
1a) Löhnis, J., Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. No. 3—4. 12—13.)
2) Perotti, R., Se la scomposizione della calciocianamide possa avvenire per mezzo dei bacteri. (Arch. farm. sperim. Anno V. Vol. V.)
3) Cf. Ref. in Staz. Speriment. Agrar. Ital. 1906. No. 8. p. 763.
4) Chem. News. 1897. No. 1954. Cf. auch Muntz und Coudon, Compt. rend. Vol. CXVI. 1893. p. 395.
5) Justs botan. Jahresber. Bd. I. 1892. p. 192.
6) Jahrb. wiss. Botan. Bd. XXXVIII. 1902. p. 147.
7) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 273.
8) Landw. Jahrb. Bd. XXXV.
9) Zeitschr. physiol. Chem. Bd. L.
10) Zeitschr. physiol. Chem. Bd. X.
11) Endprodukte der Erepsinverdauung. 1899.
12) Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XXVIII.
13) Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XXXV.
14) Arch. ges. Physiol. Bd. LXXXIX.
15) Beitr. chem. Physiol. u. Path. Bd. V.
16) Ibidem.
17) Zaleski, W., Ueber die autolytische Ammoniakbildung in den Pflanzen. (Ber. deutsch. bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 357.)
18) Loc. cit. d. Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XXIV.
19) Annal. Institut Pasteur. T. XIV.
20) Ber. deutsch. bot. Ges. Bd. XXII.
21) Jahrb. wiss. Bot. Bd. XLIII.

Kann man mit Präzipitinreaktion Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten voneinander unterscheiden?

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Helsingfors. Vorstand: Dr. Taav. Laitinen.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Lauri Kr. Relander.**

Aus den im Jahre 1902 am Hygienischen Institut der kgl. Universität Turin von Bertarelli[1]) ausgeführten Versuchen wissen wir schon, daß die biologische Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Hülsenfruchtmehlspecies verwendet werden kann. Diese Versuche zeigen ganz deutlich, daß die Eiweißstoffe der Hülsenfrüchte, in den tierischen Organismus eingeführt, die Bildung spezifischer Antikörper erzeugten und daß diese Antikörper, mit den ursprünglichen Eiweißstoffen zusammengeführt, die Präzipitinreaktion, die man im Reagenzglase als einen Niederschlag beobachten kann, verursachen. Er konnte auf diese Weise für die einander nicht sehr nahestehenden Leguminosengruppen spezifisch reagierende Sera erhalten und mit Hilfe derselben die Hülsenfrüchte voneinander unterscheiden.

Außerdem versuchte er mit Hilfe dieser Reaktion, die verschiedenen Getreidemehlspecies zu unterscheiden. Diese Versuche sind nicht mit genügender Genauigkeit relatiert worden. Er schreibt nur[2]): „Dagegen

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. Abt. II. p. 8—13. 45—51.
(2 l. c. p. 10.

scheint es mir, nach einigen Proben zu urteilen, bedeutend schwieriger zu sein, mit Getreidemehlen ein aktives Immunserum zu erhalten.

Um diese Frage klar zu legen, habe ich Präzipitinversuche mit 2 Wicken- und 8 Gerstenabarten ausgeführt. In den folgenden 3 Tabellen (I, II und III) habe ich der besseren Uebersicht wegen einige Resultate meiner Versuche zusammengestellt.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß das Serum des mit dem Eiweiß der Gerstenabart No. II behandelten Tieres nur mit der präzipitierenden Eiweißlösung der Gerstenabart No. II eine Reaktion gibt. Es ist zu bemerken, daß der Ausschlag hier schon nach 10 Minuten sich zu bilden anfing, so daß man hier nicht von einem inaktiven Immunserum sprechen kann. In den Versuchen No. 7 u. 8 trat keine Reaktion hervor, wahrscheinlich infolge der großen Verdünnung des Serums. Sowohl das Normalserum als auch die Sera von den mit der Wickenabart No. III und der Gerstenabart No. I behandelten Tieren waren ganz inaktiv.

Aus der Tabelle II kann man sehen, daß die präzipitierende Eiweißlösung der Wickenabart No. III die Präzipitinreaktion sowohl mit dem mit der Wickenabart No. III als der Wickenabart No. IV erhaltenen Serum gibt. Doch ist zu beobachten, daß diese beiden Reaktionen vollständig verschiedenartig sind und daß man sie also sehr leicht voneinander unterscheiden kann.

Das Serum aus dem mit No. IV behandelten Tier gibt nämlich eine sehr viel schwächere Reaktion und nur in mehr konzentrierter Serumlösung. Außerdem ist die Farbe des Niederschlages nicht so weiß und der Niederschlag bildet nicht so leicht Bodensatz. Sowohl das Normalserum als auch das Serum von dem mit Gerstenabart No. II behandelten Tier waren ganz inaktiv.

Die Resultate in Tabelle III sind auch sehr beweisend. Die Reaktionen sind gewiß in diesen Versuchen allgemein schwächer und treten infolge anderer Behandlung der Versuchstiere langsamer hervor als die früher erwähnten Reaktionen. Unter diesen Versuchen bekommt man die beste Präzipitinreaktion, wenn man die präzipitierende Eiweißlösung der Gerstenabart No. VII mit dem Serum des mit der Gerstenabart No. II behandelten Tieres zusammenbringt. Dies scheint anfangs in einer anderen Richtung zu sprechen als die in der Tabelle I referierten Versuche. In Wirklichkeit sind aber die Gerstenabarten No. VII und II nicht verschiedene Pflanzenabarten. No. II ist nämlich Hannchen-Gerste von Svalöf in Schweden, No. VII ist auch Hannchen-Gerste, ursprünglich auch von Svalöf, aber schon eine längere Zeit in Finnland kultiviert.

Aus dieser Tabelle kann man ersehen, daß die Reaktion auch zwischen anderen Gerstenabarten hervortreten kann. Ueber die Ursachen dieser Reaktionen in diesem Zusammenhange zu sprechen, wäre noch zu früh.

Auf diese Versuchsresultate mich stützend, wage ich zu behaupten, daß es sehr wahrscheinlich erscheint, daß man mit Hilfe der Präzipitinreaktion die Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten unterscheiden kann.

Dies ist jetzt noch sehr oft schwer auszuführen, je mehr aber die technische Seite dieser Arbeiten verbessert wird, desto leichter wird man auch in Zukunft diese Reaktionen ausführen können.

Daß diese Reaktionen von großer praktischer Bedeutung für die Samenkontrolle und Pflanzenveredelung sind, ist selbstverständlich.

Diese Versuche werde ich in nächster Zeit fortsetzen und hoffe noch mehr beweisende Resultate zu erhalten.

Tabelle

No. des Versuchs	Präzipitierende Eiweißlösung in ccm	Serum in ccm	Präzipitinreaktion 10 Minuten	Präzipitinreaktion 20 Minuten
1	0,5 (Gerstenabart No. II)	0,5 (Gerstenabart No. II)	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an
2	0,5	0,2	" " " "	" " " "
3	0,5	0,1	keine Reaktion	" " " "
4	0,5	0,05	" "	" " " "
5	0,5	0,02	" "	keine Reaktion
6	0,5	0,01	" "	" "
7	0,5	0,005	" "	" "
8	0,5	0,002	" "	" "
9	0,5	0,5 (Gerstenabart No. I)	" "	" "
10	0,5	0,2	" "	" "
11	0,5	0,1	" "	" "
12	0,5	0,05	" "	" "
13	0,5	0,5 (Wickenabart No. III)	" "	" "
14	0,5	0,2	" "	" "
15	0,5	0,1	" "	" "
16	0,5	0,05	" "	" "
17	0,5	0,5 (Normal)	" "	" "
18	0,5	0,2	" "	" "
19	0,5	0,1	" "	" "
20	0,5	0,05	" "	" "

Tabelle

No. des Versuchs	Präzipitierende Eiweißlösung in ccm	Serum in ccm	Präzipitinreaktion 10 Minuten	Präzipitinreaktion 20 Minuten
21	0,5 (Wickenabart No. III)	0,5 (Wickenabart No. III)	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
22	0,5	0,2	" "	" "
23	0,5	0,1	" "	" "
24	0,5	0,05	keine Reaktion	die Reaktion fängt an
25	0,5	0,02	die Reaktion fängt an	" " " "
26	0,5	0,01	" " " "	deutliche Reaktion
27	0,5	0,005	keine Reaktion	keine Reaktion
28	0,5	0,002	" "	" "
29	0,5	0,5 (Wickenabart No. II)	die Reaktion fängt an	schwache Reaktion
30	0,5	0,2	keine Reaktion	" "
31	0,5	0,1	" "	keine Reaktion
32	0,5	0,05	" "	schwache Reaktion
33	0,5	0,5 (Gerstenabart No. II)	" "	keine Reaktion
34	0,5	0,2	" "	" "
35	0,5	0,1	" "	" "
36	0,5	0,05	" "	" "
37	0,5	0,5 (Normal)	" "	" "
38	0,5	0,2	" "	" "
39	0,5	0,1	" "	" "
40	0,5	0,05	" "	" "

I.

nach verschiedenen Zeiten

1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden
starke Reaktion	vollständige Reaktion	vollständige Reaktion	vollständige Reaktion
vollständige Reaktion	” ”	” ”	” ”
die Reaktion fängt an	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
” ” ” ”	” ”	” ”	” ”
keine Reaktion	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an
” ”	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”

II.

nach verschiedenen Zeiten

1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden
starke Reaktion	starke Reaktion	vollständige Reaktion	vollständige Reaktion
deutliche Reaktion	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
” ”	” ”	” ”	” ”
schwache Reaktion	schwache Reaktion	schwache Reaktion	schwache Reaktion
die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an
deutliche Reaktion	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
” ”	” ”	” ”	” ”
schwache Reaktion	schwache Reaktion	schwache Reaktion	schwache Reaktion
” ”	” ”	” ”	” ”
keine Reaktion	keine Reaktion	” ”	” ”
schwache Reaktion	schwache Reaktion	” ”	” ”
keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”
” ”	” ”	” ”	” ”

Tabelle III.

No. der Versuche	Präzipitierende Eiweißlösung in ccm		Serum in ccm		Präzipitinreaktion nach verschiedenen Zeiten: 10 Minuten	20 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden
41	Gersten-abart No. V	0,5	Gersten-abart No. I	0,2	Keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
42		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
43		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
44		0,5		0,02	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
45	Gersten-abart No. VI	0,5	Gersten-abart No. II	0,5	„ „	„ „	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	schwache Reaktio
46		0,5		0,2	„ „	„ „	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	„ „
47		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	deutliche „
48		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	keine „
49	Gersten-abart No. VII	0,5	Gersten-abart No. II	0,5	„ „	die Reakt. fängt an	die Reaktion fängt an	deutliche Reaktion	starke Reaktion	Vollständige „
50		0,5		0,2	„ „	„ „ „ „	„ „ „ „	„ „	„ „	„ „
51		0,5		0,1	„ „	keine Reaktion „	„ „ „ „	„ „	„ „	„ „
52		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „ „ „	die Reaktion fängt an	deutliche Reaktion	deutliche „
53	Gersten-abart No. VIII	0,5	Gersten-abart No. I	0,2	„ „	„ „	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	die Reaktion fängt
54		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	keine Reaktion
55		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
56		0,5		0,02	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
57	Gersten-abart No. IX	0,5	Gersten-abart No. I	0,2	„ „	„ „	„ „	„ „	die Reaktion fängt an	schwache Reaktion
58		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „ „ „	„ „
59		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „	„ „	keine Reaktion	keine Reaktion
60		0,5		0,02	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
61	Gersten-abart No. X	0,5	Gersten-abart No. I	0,2	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	die Reaktion fängt
62		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	keine Reaktion
63		0,5		0,05	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
64		0,5		0,02	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
65	Gersten-abart No. I	0,5	Gersten-abart No. I	0,2	„ „	„ „	die Reaktion fängt an	die Reaktion fängt an	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
66		0,5		0,1	„ „	„ „	„ „ „ „	„ „ „ „	„ „	„ „
67		0,5		0,05	„ „	„ „	keine Reaktion	„ „ „ „	„ „	„ „
68		0,5		0,02	„ „	„ „	„ „	„ „ „ „	„ „	„ „

Referate.

Stoklasa, Julius, Ueber die glykolytischen Enzyme im Pflanzenorganismus. Unter Mitwirkung von **A. Ernst** und **K. Chocenský.** (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. L. 1907. p. 303—360. 26./1. Bd. LI. 1907. p. 156—157. 16./3. Berichte der Deutsch. Botan. Ges. Bd. XXIV. 1907. p. 542—552. 24./1. Bd. XXV. 1907. p. 38—42. 21./2. Bd. XXV. 1907. p. 122—131. 23./4.)

In dieser umfangreichen Abhandlung, welche, wie aus dem Nachstehenden ersichtlich ist, in drei Teile zerfällt, wird über neue Beobachtungen, die beim Existenznachweise glykolytischer Enzyme und deren Eigenschaften gemacht wurden, referiert. Wie bekannt, studiert Stoklasa mit seinen Mitarbeitern schon mehrere Jahre mit größtem Eifer die anaërobe Atmung der Samenpflanzen und die Isolierung der Atmungsenzyme. Ihre diesbezüglichen Versuche haben sie unter möglichst sorgfältigem Ausschluß von bakteriellen Verunreinigungen ausgeführt, und so gelang es ihnen auch tatsächlich, nachzuweisen, daß bei der anaëroben Atmung von Zuckerrüben, Gurken, Kartoffeln, Bohnen etc. als Hauptprodukte dieser Alkohol und Kohlendioxyd auftreten, und daneben sich immer eine gewisse Menge Milchsäure bildet. Die anaërobe Atmung der verschiedenen Organe der Samenpflanzen geht in der Weise vor sich, daß aus der aus den Hexosen gebildeten Milchsäure Alkohol und Kohlensäure, und zwar, wie die Tabellen zeigen, in einem der alkoholischen Gärung entsprechenden Mengenverhältnis, entstehen; im wesentlichen ist demnach der anaërobe Stoffwechsel der untersuchten Pflanzenorgane mit der alkoholischen Gärung identisch. Vor Beginn der anaëroben Atmung finden sich nur Spuren von Milchsäure vor. Ferner weisen die Verff. nach, daß die anaërobe Atmung erfrorener Organe von Samenpflanzen, und zwar des Blattwerkes, sowie der Wurzel der Zuckerrübe und der Knollen der Kartoffel, eine alkoholische Gärung ist (vgl. Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVIII. 1906. p. 214. C. II. p. 616). Zymase und Lactacidase werden demnach durch das Gefrieren nicht zerstört, ihre Existenz in voller Aktivität ist aber nur von so kurzer Dauer, daß sie nicht mehr isoliert werden können. Jedenfalls handelt es sich auch hier um eine alkoholische Gärung.

Weiter wurde auch der Nachweis erbracht, daß die aus den von Gewebsteilen und Zellen vollständig freien Pflanzensäften durch absoluten Alkohol und Aether gewonnenen Niederschläge gärungserregende Enzyme enthalten. Diese Rohenzyme waren, wie die Versuche zeigen, befähigt, bei völliger Abwesenheit von Bakterien in der Glukoselösung eine Milchsäure- und alkoholische Gärung hervorzurufen, bei welchem Prozeß bei vollem Sauerstoffzutritt sich immer gewisse Mengen von Essig- und Ameisensäure bilden (siehe Tab. I u. II p. 524). Zur Isolierung der Rohenzyme aus Pflanzen wurden gewöhnlich 5—6 kg junger und frischer Pflanzensubstanz verwendet. Die frische Pflanzenmaterie, welche keinerlei Zersetzung durch Fäulnis aufweisen darf, wird zerstückelt und der Saft unter einem Drucke von 300—400 Atmosphären ausgepreßt. Dem so gewonnenen Safte wird ein Gemisch von Alkohol und Aether zugesetzt, worauf ein an Eiweißstoffen reicher Niederschlag sich ausscheidet, der möglichst schnell von der Flüssigkeit getrennt und dann vorsichtig getrocknet wird.

Die von den obengenannten Autoren gewonnenen analytischen Resultate zeigen deutlich, daß in allen Fällen anaërober Atmung Milchsäure

Tabelle I.

Die angeführten analytischen Daten sind aus 3—4 Versuchsresultaten auf 10 g Rohenzym umgerechnet worden. Temperatur 20° C.

Provenienz der isolierten Enzyme	Lösung, in der die Gärung vor sich geht	Verwendetes Antiseptikum	Dauer der Gärung in Stunden	Gesamtmenge der Milchsäure in g	Gesamtmenge des CO_2 in g	Gesamtmenge des Alkohols in g
1. Wurzel der Zuckerrübe	15 % Glukose	2 % Salicylsäure	58	0,23	0,862	0,800
2. „ „ „	15 „ „	1 „ „	59	0,36	0,813	0,793
3. „ „ „	15 „ Fruktose	1 „ „	60	0,12	0,400	0,296
4. „ „ „	15 „ Glukose	2 „ „	38	0,08	0,386	0,289
5. „ „ „	15 „ „	2 „ „	54	0,09	0,268	0,245
6. Blätter „ „	15 „ „	1 „ „	44	0,08	0,310	0,369
7. „ „ „	15 „ „	1 „ „	48	0,04	0,340	0,364
8. Knollen der Kartoffel	15 „ „	2 „ „	48	0,25	0,321	0,284
9. „ „ „	15 „ „	2 „ „	48	0,06	0,281	0,206

Tabelle II.

Die hier angeführten analytischen Daten sind aus zwei Versuchsresultaten auf 10 g Rohenzym umgerechnet worden. Temperatur 37° C.

Provenienz der isolierten Enzyme	Lösung, in der die Gärung vor sich geht	Verwendetes Antiseptikum	Dauer der Gärung in Stunden	Gesamtmenge der Milchsäure in g	Gesamtmenge des CO_2 in g	Gesamtmenge des Alkohols in g
1. Gerstenkeimlinge	15 % Glukose	2 % Salicylsäure	52	0,33	0,45	0,49
2. „	15 „ „	2 „ Toluol	50	0,27	0,73	—
3. Erbsenkeimlinge	15 „ „	2 „ Salicylsäure	48	0,24	0,52	0,66
4. „	15 „ „	2 „ Toluol	52	0,18	0,86	—
5. Lupinenkeimlinge	15 „ „	2 „ Salicylsäure	52	0,30	0,48	0,55
6. „	15 „ „	2 „ Toluol	52	0,24	0,76	—

nachzuweisen war. Aus der Menge des gebildeten Alkohols und Kohlendioxyds ist zu ersehen, daß faktisch eine alkoholische Gärung vor sich gegangen ist. Durch weitere Oxydationsprozesse bildet sich dann aus Alkohol Essig- und Ameisensäure. Stoklasa und seine Mitarbeiter stellten sodann weitere Orientierungsversuche mit größeren Mengen von Rohenzym an, und zwar verwendeten sie pro Versuchskolben 23 bis 25 g Enzym und benutzten 250 ccm 15-proz. sterilisierter Glukoselösung. Als Antiseptikum nahmen sie wieder 2,5 g Salicylsäure. Durch einen Kolben wurde kohlendioxydfreie Luft durchgeleitet, durch den andern Versuchskolben ließen sie Wasserstoff durchströmen. Im ersten Falle haben daher die Enzyme bei Sauerstoffzutritt den Gärungsprozeß hervorgerufen, im anderen Falle bei Sauerstoffabschluß. Nach 52-stündiger Gärung fanden die Verff. nachstehende Resultate. In Wasserstoffatmosphäre wurde gefunden:

$$C_3H_6O_3 = 0{,}528 \text{ g}$$
$$C_2H_5OH = 1{,}263 \text{ „}$$
$$CO_2 = 1{,}392 \text{ „}$$

Bei Sauerstoffanwesenheit wurde konstatiert:

$$C_3H_6O_3 = 0{,}132 \text{ g}$$
$$C_2H_5OH = 1{,}682 \text{ „}$$
$$CO_2 = 1{,}453 \text{ „}$$
$$C_2H_4O_2 = 0{,}321 \text{ „}$$

Acetaldehyd und Ameisensäure wiesen sie qualitativ nach. Die Gase, welche sich beim Abbau der Glukose bei Luftzutritt durch Enzymwirkung bilden, sind Kohlendioxyd und Wasserstoff. Diese beiden Gase hatten die Verff. qualitativ nachgewiesen. Die Entnahme derselben erfolgte einem Gärkolben. Die Bestimmung des Kohlendioxyds geschah nach den in Stoklasas ausführlicher Arbeit geschilderten Methoden. Sodann wurde das kohlendioxyd- und wasserdampffreie Gas durch einen Verbrennungsofen hindurchgetrieben. Die Einrichtung des letzteren war ganz analog jenem, den die Verff. bei der elementaren Analyse verwendeten. Das aus dem Wasserstoff gebildete Wasser ließen die genannten Autoren in Chlorcalciumröhren absorbieren. Methan konnten sie nicht konstatieren, seine Abwesenheit wurde in beigeschlossenen Geisslerschen Apparaten bezw. durch Verbrennung gebildeter Kohlensäure mit Kaliumhydrat festgestellt. Die Verff. fanden:

im 1. Falle auf 1,453 g gebildeten CO_2 0,098 g H
„ 2. „ „ 1,200 „ „ „ 0,081 „ „
„ 3. „ „ 1,735 „ „ „ 0,045 „ „

Dem Wasserstoff, welcher bei der Degradation der Kohlenhydrate, und zwar durch die Wirkung der Atmungsenzyme als Endprodukt entsteht, ist bei der Assimilation des Kohlendioxyds in der chlorophyllhaltigen Zelle eine bedeutungsvolle Funktion zugewiesen. Es ist die Möglichkeit der Bildung von CH_2O durch Reduktion des CO_2 nach der Formel $CO_2 + 4\,H = CH_2O + H_2O$ nicht ausgeschlossen.

Aus den langjährigen Beobachtungen der Verff. geht hervor, daß in den Pflanzenzellen Atmungsenzyme vorhanden sind, welche eine Milchsäure- und alkoholische Gärung hervorrufen. Die von den Verff. gefundenen Enzyme sind in vieler Hinsicht der Zymase und Lactacidase ähnlich. Es sind hier zweierlei Arten von Atmungsenzymen zu unterscheiden, und zwar: Die im Protoplasma sich abspielenden primären Prozesse werden

1) durch die Enzyme Zymase (Milchsäurebildung),
2) durch die Lactacidase (Alkohol- und Kohlendioxydbildung)

hervorgerufen. Die sekundären Produkte, welche sich durch weitere Degradation der Abbauprodukte kennzeichnen, gehen nur bei Gegenwart von Sauerstoff vor sich. Durch Einwirkung neuer Enzyme entsteht Acetaldehyd, Essigsäure, wahrscheinlich Methan, Ameisensäure und schließlich Wasserstoff. Die gebildeten Spaltungsprodukte, soweit sie noch oxydierbar sind, werden durch den hinzutretenden Sauerstoff der Luft zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannt.

Die Arbeiten von R. O. Herzog, Eduard Buchner und Jakob Meisenheimer bestätigen also vollends die früheren Angaben Stoklasas, die er schon im Jahre 1903 publizierte, welche dahin lauten, daß in der lebenden Pflanzen- und Tierzelle Milchsäure, Alkohol, Kohlendioxyd, Essig- und Ameisensäure durch Enzyme gebildet werden. Die Existenz der Stoklasaschen Atmungsenzyme wurde übrigens von vielen Seiten bestätigt. Nur eine kleine Minorität von Forschern versuchte es, die Frage nach dem Vorhandensein der Atmungsenzyme im Pflanzen- und Tierorganismus noch als eine offene und die von den Verff. auf Grund ihrer

Untersuchungen konstatierte Zersetzung der Hexosen durch die glykolytischen Enzyme als das Ergebnis von Bakterienwirkung hinzustellen. Wenn allerdings einzelne Autoren, wie Batelli, Mazé und Portier, tatsächlich das Vorhandensein von Bakterien in ihren Versuchsflüssigkeiten konstatiert haben, so muß man Stoklasa selbstverständlich recht geben, daß es dann auch ihre Pflicht gewesen wäre, sich davon zu überzeugen, ob die gefundenen Bakterien, ihre Art und Zahl imstande gewesen wären, ebenfalls solche Prozesse zu verursachen, wie sie die Verff. bei den Wirkungen der von ihnen isolierten Rohenzyme sichergestellt hatten. Jeder erfahrene Bakteriologe wird Stoklasa gern bestätigen, daß sich ungemein schwer bei völligem Ausschluß von Bakterien operieren läßt. Hat man sie aber da oder dort bei einer Operation konstatiert, so muß man doch sicherlich untersuchen, ob und welche Wirkung, eventuell welche Alteration einer anderen Wirkung ihre Anwesenheit im Gefolge haben konnte. Die bloße Konstatierung des Vorhandenseins einiger weniger Bakterienspecies in einer Gärflüssigkeit reicht sowohl nach der Erfahrung und Ueberzeugung der ganzen Schule Stoklasas, als auch der aller objektiven Forscher auf dem Gebiete der Enzymologie durchaus nicht hin, um eine so eminente und auffällige Wahrheit zu bestreiten, wie die von den Verff. festgestellte glykolytische Wirkung der von ihnen isolierten Enzyme. In demselben Sinne äußerte sich auch die vorzügliche Forscherin Nadine Sieber-St. Petersburg. Der schlagendste Beweis für die Exaktheit der Versuche Stoklasas ist:

1) daß bei der Eintragung der glykolytischen Enzyme in Glukoselösung sofortige Gärungserscheinungen hervorgerufen werden, welche Tatsache nicht nur alle Assistenten und Schüler Stoklasas, sondern auch Angiola Borrino, A. Herlitzka, Blumenthal und Feinschmidt konstatiert haben;

2) haben die Verff. zu ihren Gärflüssigkeiten stets eine solche Menge von Desinfizientien zugesetzt (1—2 Proz. Toluol oder 1—2 Proz. Salicylsäure), daß durch sie jegliche Bakterienwirkung für jeden nüchternen Bakteriologen von vornherein tatsächlich ausgeschlossen erscheint.

Ferner ist auch noch des der Paradoxie nicht entbehrenden Faktums zu gedenken, daß die Forscher Batelli, Mazé und Portier die auf zymatischer Wirkung beruhenden gegenwärtigen Versuche Buchners nicht anzweifelten, trotzdem er weit geringere antiseptische Dosen benutzte als Stoklasa. Wenn nun Buchner schon bei einer viel geringeren Dosis von Antisepticis der Ausschluß der Bakterienwirkung ohne weiters eingeräumt wird, mit welchem Rechte bezweifelt man wirklich die Verläßlichkeit der Stoklasaschen Versuche und ihre Resultate, wo er auf 50 ccm Glukoselösung und 5 g Rohenzym 0,5—1 g Toluol, also 1—2 Proz. oder 0,5—1 g Salicylsäure verwendete?

Was die früheren Versuche Stoklasas betrifft, so ist noch erwähnenswert, daß ihre Zahl in die Hunderte geht, wobei er im Verlaufe von 5 Jahren, die sie umfassen, mit seinen Assistenten mehrere Meterzentner Pflanzen- und Tierorgane verarbeitete. Von allen diesen Versuchen publizierte er jedoch nur diejenigen, bei denen auch nur der leiseste Zweifel deplaziert erschiene. Angesichts eines solchen Untersuchungsmaterials sind wohl ein paar als mißglückt zu bezeichnende, vielleicht nicht einmal mit der erforderlichen Akkuratesse und Vorsicht ausgeführte Experimente, als welche sich diejenigen namentlich von Batelli und Portier auf den ersten Blick geben, nicht geeignet, eine so umfassende und nach allen Richtungen hin gesicherte Arbeit, wie es diejenige von

Stoklasa über die Isolierung von Enzymen ist, deren Tragweite wahrlich heute allgemein anerkannt wird, auch nur zu alterieren!

Jaroslav Just (Prag).

Hueppe, Ferdinand, Frauenmilch und Kuhmilch in der Säuglingsernährung. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 1597.)

An der Hand seiner eigenen früheren Untersuchungen über Keimfreimachung und Aufbewahrung der Milch weist H. darauf hin, daß ein großer Teil der Ergebnisse neuerer Serumarbeiten über Milcheiweiß u. dgl. bereits längst bekannt war, daß in der Praxis der Kinderernährung die Kuhmilch nicht entbehrt werden kann. Jede Verbesserung der künstlichen Ernährung ist deshalb vom Standpunkte der öffentlichen Gesundheitspflege ein Fortschritt. Dahin gehört die Beseitigung des künstlich durch vorschnelle Verallgemeinerung von Laboratoriumsversuchen groß gezogenen Vorurteils gegen gekochte Kuhmilch. Wenn diese von zweckmäßig ernährten Tieren in einwandsfrei reinlicher Weise gewonnen, richtig kurz erwärmt oder sterilisiert und in trinkfertigen Einzelportionen abgegeben und richtig aufgehoben wird, so ist sie zweifellos der beste künstliche Ersatz für die Frauenmilch.

Georg Schmidt (Berlin).

Henkel, Die Acidität der Milch, deren Beziehungen zur Gerinnung beim Kochen und mit Alkohol, die Säurebestimmungsmethoden, der Verlauf der Säuerung. II. (Milchwirtsch. Centralbl. 1907. Heft 9.)

Aus dem Kapitel, daß die Versuche des Verf., teilweise in Gemeinschaft mit v. Soxhlet angestellt, über die Gerinnung der Milch bei Säurezusatz behandelt, ist zu erwähnen, daß die Zunahme der Acidität infolge von Säurezusatz genau der zugegebenen Säuremenge entspricht, und daß, im Gegensatz zu Angaben von Richmond, Bristowe und Harrison (The Analyst. Vol. XXV. p. 116) Mineralsäuren und organische Säuren gleiche Wirkung hatten. Weiter erfolgt die Gerinnung derselben Milch beim Kochen bei gleichem Säuregrad, gleichgültig, ob die Säure zugesetzt wurde, oder ob sie durch spontane Säuerung der Milch bei beliebiger Wärme gebildet wurde. Es dürfte, soweit sich Mittelzahlen überhaupt angeben lassen, der Säuregrad, bei dem die selbständige Gerinnung eintritt, ungefähr bei 30—32° liegen. Nachdem noch über die „Kochprobe" gesagt ist, daß die zur Gerinnung beim Kochen erforderliche Zunahme der Acidität der Milch infolge der besonderen Eigenschaften jeder Misch- wie Einzelmilch durchaus keine feststehende Zahl darstellt, sich auch allgemeingültige Beziehungen zwischen ursprünglichem Säuregrad und dem bei der Kochgerinnung beobachteten nicht mit Sicherheit feststellen lassen, geht Verf. zur Besprechung der Milchgerinnung bei Alkoholzusatz über. Nach einer Reihe von geschichtlichen Angaben und Betrachtungen werden die eigenen Versuche auf diesem Gebiete mitgeteilt, aus denen sich folgende Schlüsse ergeben:

Je hochprozentiger der Alkohol, und je größer die zu einer bestimmten Menge Milch verwendete Alkoholmenge ist, bei um so niedrigerem Säuregrad erfolgt die Gerinnnung und desto intensiver ist bei derselben Milch die Ausscheidung des Gerinnsels. Wird denaturierter Spiritus verwendet, so erfolgt die Gerinnung erst bei höherem Säuregrad, von seiner Verwendung ist also abzuraten. Die Benutzung von 68-proz. Alkohol ist am zweckmäßigsten.

Bei Anwendung zu großer Mengen von Alkohol oder zu starken

Alkohols kann auch frische Mischmilch gerinnen. Dies geschieht dagegen bei frischer Mischmilch, wie Milch von einzelnen Tieren bei Verwendung von 68- und 70-proz. Alkohol in gleicher Menge (einfache Probe) nicht.

Der Säuregrad, bei dem dieselbe Milch mit Alkohol von bestimmter Stärke gerinnt, ist annähernd derselbe, gleichgültig, ob die Säuerung freiwillig vor sich ging oder nicht. Dagegen ist der Säuregrad, bei dem verschiedenerlei Milch durch Alkohol von bestimmter Stärke gerinnt, keine feststehende Größe. Für Mischmilch kann man im allgemeinen sagen, daß sie mit Alkohol von 68 Volumprozent bei 8,5 und mehr Säuregraden gerinnt. Einzelmilch weist dagegen größere Schwankungen auf, es kann hier sogar frische Milch, wenn sie von altmelken Kühen stammt, ebenso Kolostrum, ohne weiteres mit Alkohol gerinnen.

Ehrenberg (Breslau).

Henneberg, W., Bakteriologische Untersuchungen über Weinessiggärung. Vortrag auf der Generalversammlung der deutschen Essigfabrikanten in München. (Die deutsche Essigindustrie. 1907. No. 32—33.)

In den Weinessigfabriken, die nach dem Orleansverfahren arbeiten, trifft man heutzutage auf den säuernden („gärenden") Weinessigmaischen vielfach die verschiedensten Hautbildungen an. Neben der trockenen, weißen, brüchigen Haut der Kahmhefe finden sich die unzerreißbaren, oft centimeterdicken, gallertigen Häute des Schleimessigbakteriums (Bacterium xylinum), die äußerst dünnen, zusammenhanglosen Hautbildungen des B. vini-acetati und des B. ascendens, sowie die dünnen, zusammenhängenden, etwas elastischen „Seidenpapierhäute" des B. orleanense und des B. xylinoides. Die Kahmhefe, das B. ascendens und B. vini-acetati trüben die Essigmaische und den fertigen Essig in starkem Maße, während die übrigen genannten Arten denselben fast völlig „blank" lassen. Das B. xylinum verursacht oft einen schlechten Geruch, während B. xylinoides und B. orleanense einen schönen Bukettstoff im Essig hervorrufen. Die Kahmhefe säuert meist gar nicht, verzehrt sogar die Essigsäure, das B. xylinum säuert sehr langsam, dagegen säuert das B. ascendens wie das B. orleanense und das B. xylinoides gewöhnlich sehr schnell. Das B. xylinum bedingt starke Alkoholverluste, während z. B. das B. orleanense und B. xylinoides meist vorteilhaft arbeiten.

Die Weinessigfabriken arbeiten heutzutage, je nach der Pilzart, die sich zufällig einfand, gut oder schlecht. Die Art, die in größter Menge an den Wandungen der Bottiche u. s. w. vorhanden war, gelangt zur Herrschaft. Daher kommt es, daß in genau gleich behandelten Kufen, die nebeneinander in ein und demselben Fabrikraum stehen, die verschiedenen oben genannten Hautbildungen und sonstigen Erscheinungen bei der Essigsäuerung öfters zu beobachten sind.

Man pflegt entweder die durch Zusatz von fertigem Essig angesäuerte Weinessigmaische sich selbst zu überlassen oder man bringt die nötigen Essigbakterien durch Zusatz von Essig aus einer „gärenden" Weinessigkufe oder aus einem „arbeitenden" Schnellessigbottiche in die frisch angestellte Weinessigkufe. In den letzteren Fällen ist die Kahmhefeninfektion zwar meist verhindert, eine Auswahl bestimmter erwünschter Essigbakterien aber nicht getroffen, da auf diese Weise die verschieden-

sten Arten oder Rassen zur Einsaat kommen. Oftmals gelangt daher nicht die vielleicht im Ausgangsbottich vorherrschende günstige Art zur Herrschaft, sondern eine andere bisher unterdrückte ungünstige. Ebenso bringt man durch Zusatz von Schnellessig wohl stets neben verschiedenen, mehr oder weniger brauchbaren Essigbakterienrassen das sehr unerwünschte B. xylinum in die Weinessigmaische.

Außer der großen Unsicherheit macht sich heutzutage noch die Aalinfektion in den Weinessigfabriken in störender Weise bemerkbar. Für die Essigälchen sind nämlich die Lebensbedingungen in den Weinessigfabriken, die nach dem Orleansverfahren arbeiten, besonders günstig, so daß sie sich außerordentlich vermehren und sehr lästig werden können.

Das einzige Mittel gegen diese Uebelstände ist die Anwendung von Reinzucht bestimmter Essigbakterienarten in pasteurisierten, d. h. aalfreien Weinessigmaischen. Verf. hat diesem Gegenstande seit langem seine Aufmerksamkeit zugewandt. Einiges von den neueren Untersuchungen soll hier kurz mitgeteilt sein.

Bisher sind in Weinessigfabriken B. xylinum, B. xylinoides, B. vini-acetati und B. ascendens vom Verf. aufgefunden. Außerdem ist hier das B. orleanense, das Verf. in einem Schnellessigbottich der Versuchsfabrik des Instituts für Gärungsgewerbe auffand und für Weinessiggärung sich als gut brauchbar erwies, von Interesse.

Vom praktischen Standpunkte lassen sich brauchbare Weinessigbakterien („Kultur-Weinessigbakterien") und unbrauchbare („wilde Weinessigbakterien") unterscheiden. Zu ersteren gehören bisher B. orleanense und xylinoides, die sich möglicherweise noch als identisch erweisen, jedenfalls nahe verwandte Rassen sind, während B. xylinum, B. vini-acetati und B. ascendens unbrauchbare Arten sind.

Entscheidend ist hier zunächst oft die Art der Haut, die von der Menge und Beschaffenheit der von den Pilzzellen ausgeschiedenen Schleimsubstanz bestimmt wird. Die zusammenhanglose, den Essig stark trübende „Staubhaut" macht das B. ascendens und B. vini-acetati für unsere Zwecke unbrauchbar, während die fester zusammenhängende „Seidenpapierhaut", die den Essig niemals trübt, der Grund der guten Verwendbarkeit des B. orleanense und des B. xylinoides ist. Manche Bakterien sind ferner wegen ihrer geringen Säuerungskraft unbrauchbar. Das sehr häufige B. xylinum, die sogenannte „Essigmutter", darf in guten Betrieben nicht geduldet werden, da es zu langsam arbeitet, zu viel Alkohol verzehrt, unangenehmes Aroma verursacht und infolge seines sehr leichten Untersinkens die Essiggärung oft gänzlich zum Stillstand bringt oder auf längere Zeit unterbricht.

Bevor man an die Verwendung von Reinzucht-Weinessigbakterien ging, mußte festgestellt werden, wie die Aelchen- und die Kahmhefeinfektion zu vermeiden ist. Verf. beobachtete, daß ein Essig, der 2 Minuten auf 46° C oder einige Sekunden auf 47,5° C erhitzt wurde, frei von lebenden Aelchen ist. Ein einige Minuten auf 48—50° C erwärmter Essig erweist sich als frei von lebenden Kahmhefezellen. Wenn die Essigmaische 1,75—2-proz. Essigsäure enthält, so ist in den allermeisten Fällen eine neue Infektion von Kahmhefen aus der Luft u. s. w. ausgeschlossen.

Ferner mußte das Verhalten der in Betracht kommenden Weinessigbakterien höheren Wärmegraden, größeren Alkohol- und Essigmengen und der natürlichen Säure des Weines gegenüber möglichst genau bekannt sein.

Zur Pasteurisierung der Weinessigmaische genügt ein ganz kurzes Erhitzen bis auf 48—50° C.

Die größte Alkoholmenge, die ohne Schaden vertragen wird, ist für B. xylinum bisher 6 Vol.-Proz., dagegen für B. orleanense, B. xylinoides und B. ascendens 10—12 Vol.-Proz. Je weniger Alkohol aber vorhanden ist, desto schneller tritt die Entwickelung der Essigbakterien ein. Eine geringe Menge, etwa 1—4 Vol.-Proc. Alkohol, regt ihre Vermehrung an. Bei hohem Alkoholgehalt liegt das Wachstumsoptimum einige Grade niedriger (22—25° C) als in Flüssigkeiten mit geringerem Alkoholgehalt.

Essigstichige Weine sind für die Weinessigfabrikation brauchbar, milchsäurestichige wegen ihrer schwer zu beseitigenden Trübung meist nicht. Zur Verhütung der Kahmhefeninfektion wird bekanntlich in der Praxis die Weinessigmaische (Wein, Wasser und Essig, mit verschiedenen Zusätzen, wie Rosinensaft u. s. w.) stets angesäuert. Die Praxis macht hier sehr häufig einen großen Fehler, indem zu viel Essig zur Maische zugesetzt wird. Die Versuche des Verf. ergaben nämlich, daß die Entwickelung der Weinessigbakterien bei einem Gehalte von mehr als 2,5 Proz. Essigsäure ganz bedeutend verzögert wird. Sehr wichtig für die Praxis ist ferner, daß Essigbakterien, die nicht regelmäßig und nicht rechtzeitig in unverdünnten Weinessigmaischen fortgepflanzt werden, jedesmal von neuem an den höheren Alkohol- und Säuregehalt angepaßt werden müssen. Man überträgt zu diesem Zwecke die Essigbakterien aus stark verdünnten Maischen nach einigen Tagen in immer stärker gesäuerte Weinessigmaischen. Die Anpassungsfähigkeit der Weinessigbakterien ist wie bei den Schnellessigbakterien eine ganz außerordentlich starke. Besonders deutlich ist dies zu beobachten, wenn man von Agarkulturen, also von Essigbakterien, die gar nicht an Säure gewöhnt sind, ausgeht.

In unverdünnten Weinen wachsen infolge des natürlichen Säuregehaltes nur manchmal die Essigbakterien, da sie gegen Weinsäure vielfach recht empfindlich sind.

Schließlich wurde durch besondere Versuchsreihen festgestellt, daß die Uebertragung der Weinessigbakterien am besten durch Hautübertragung von Flüssigkeit zu Flüssigkeit geschieht, wie bekanntlich schon von Pasteur empfohlen wurde.

Bei Beachtung aller genannten Umstände macht die Anwendung von Reinzucht-Weinessigbakterien in der Praxis, wie Verf. innerhalb der letzten 1½ Jahre beobachten konnte, gar keine Schwierigkeit. Mehr als 20 Kufen mit je 30—60 Liter Weinessigmaische hat Verf. bisher mit Reinkultur versäuern lassen. Einige der dabei gemachten Beobachtungen mögen hier kurz mitgeteilt sein, im einzelnen muß auf die ausführliche Mitteilung verwiesen werden.

Zunächst muß regelmäßig der zu verwendende Wein auf seine Brauchbarkeit durch einen Laboratoriumsversuch geprüft werden. Dies geschieht am einfachsten, indem man lebenskräftige, an Säure und Alkohol angepaßte Reinzucht-Weinessigbakterien in eine kleine Probe des pasteurisierten Weines einimpft. In manchen Fällen wird nämlich zur Haltbarkeit des Weines ein Antiseptikum zugesetzt. Im Laboratorium

hält man sich in kleinen Kolben auf verdünnten pasteurisierten Weinessigmaischen kräftige Reinkulturen von Weinessigbakterien beständig vorrätig, so daß von hier aus eine Uebertragung in unverdünnte Weinessigmaische zu jeder gewünschten Zeit auf beliebig viele Kufen mit günstigstem Erfolg ausgeführt werden kann.

Die Weinessigkufen müssen vor jedem Gebrauch zweckmäßig mit kochender, 1-proz. Sodalösung gereinigt werden. Die Weinessigmaische, ebenso später der fertige Essig, muß durch kurzes Erhitzen auf 50° C pasteurisiert werden.

In den vom Verf. angestellten Versuchen wurde bisher 4mal B. orleanense, ebenso oft das B. xylinoides und 16mal eine aus der Rheingegend stammende Art, die sich später ebenfalls als B. xylinoides erwies, angewandt.

Eine Aalinfektion blieb, da die Aelchen nicht durch die Luft übertragen werden, natürlich aus. Lästig wurden die Essigfliegen dadurch, daß sie in den Essig hineinfielen. Dies konnte geschehen, weil die Kufen, der Praxis entsprechend, mit einem nicht dicht schließenden Holzdeckel bedeckt waren und offene Luftlöcher hatten.

Eine Infektion durch Kahmhefe oder fremde Essigbakterien trat aber trotzdem nicht ein, weil die in großer Aussaat eingebrachten schnell sich entwickelnden und schnell säuernden Weinessigbakterien dazu gar keine Gelegenheit gaben.

Besondere Beachtung wurde der Art der Hautbildung der Weinessigbakterien zugewendet, da es natürlich von großem Wert ist, daß der Praktiker ohne schwierige Untersuchungen, also ohne Mikroskop, das Vorhandensein oder Fehlen der gewünschten Essigbakterienart erkennen kann. Es hat sich nun aber gezeigt, daß auch in der Reinzucht das Aussehen der Häute in bestimmten Grenzen recht verschieden sein kann: Neben der „Seidenpapierhaut" kann die „Lederhaut", die für B. xylinum bekanntlich charakteristisch ist, und eine klebrige „Flockenhaut" bei sämtlichen 3 geprüften Weinessigbakterienrassen auftreten. Die genannten Hautbildungen fanden sich entweder allein in den einzelnen Kufen oder traten in ein und derselben Kufe in derselben Hautmasse auf. Da die Bildung der „Lederhaut" ebenso wie bei B. xylinum wegen ihrer zu langsamen Säuerungsfähigkeit und wegen ihres leichten Untersinkens im höchsten Grade unerwünscht ist, muß versucht werden, im Interesse der Praxis noch genau die Bedingungen dieser Variation in der Hautbildung ausfindig zu machen. Die Versuche sind darüber bisher noch nicht zum Abschluß gebracht.

Einer der großen Vorteile der Anwendung von Reinzucht ist jedenfalls die Schnelligkeit der Hautbildung und die damit in Zusammenhang stehende schnelle Säuerung: Die übergeimpften Hautteilchen wachsen oft schon in 24 Stunden, so daß bis zum 4. Tage meist die ganze Flüssigkeitsoberfläche mit einer zusammenhängenden „Essighaut" bedeckt ist. Dies ist ein ganz bedeutender Vorteil gegenüber der oft sehr langsamen Entwickelung der Haut in der Praxis! In den Reinzuchtversuchen des Verf. war manchmal z. B. schon am 8. Tage mit 6 Proz. Säure oder am 18. Tage mit 8,2 Proz. Säure die Essigbildung beendigt. Der gewonnene Essig war stets völlig blank und sehr aromatisch. Die Zunahme an Säure innerhalb 24 Stunden betrug im besten Fall für 30 Liter 1,2 Proz., manchmal 0,6 Proz., vielfach 0,3—0,4 Proz. Essigsäure. Bei so lebhafter Oxydation

erwärmte sich die Oberfläche der Weinessigmaische um 6°, die Tiefe um 3° über eine 25° C betragende Temperatur des Zimmers.

Schließlich wurden noch einige Versuche ausgeführt mit dicht schließenden Steinkufen, die mit Watte verstopfte Luftlöcher hatten, um die lästigen Essigfliegen auszuschließen. Letzteres gelang, doch wurde die Essigbildung fast völlig gehemmt. In 24 Stunden nahm die Säuerung nur um 0,06 Proz. zu. Die Bakterien litten in hohem Grade unter Sauerstoffmangel, erholten sich auch nach Entfernung des Deckels nicht. Autoreferat.

Fischer, Eduard, Der Entwickelungsgang der Uredineen und die Entstehung neuer Formen im Pflanzenreiche. (Mitteilungen der naturf. Gesellsch. in Bern aus dem Jahre 1907. 21 p. des Separatabdruckes. Bern 1907.)

Der Entwickelungsgang der Uredineen zerfällt in 2 deutliche Abschnitte: einen Abschnitt mit einkernigen Zellen und Kernen von einfacher Chromosomenzahl und einen Abschnitt, in welchem die Zellen ein Synkaryon oder später einen Kern von doppelter Chromosomenzahl enthalten. Der erste umfaßt die Entwickelung von der Basidiospore bis zur Anlage der Aecidiospore, der zweite die Aecidiosporen, die Uredofruktifikation, die Teleutosporen bis zur Bildung der Basidiosporen. Den ersten Abschnitt, der seinen Abschluß in einem Sexualakte findet, können wir nach Analogie der höheren Pflanzen als die sexuelle Generation oder als Gametophyten bezeichnen (Lotsy hat für denselben den Ausdruck x-Generation eingeführt). Den zweiten Abschnitt nennen wir die sporenbildende Generation oder den Sporophyten, derselbe findet seinen Abschluß in der Bildung der Basidiosporen, mit der wahrscheinlich eine Reduktionsteilung der Kerne Hand in Hand geht (Lotsy bezeichnet ihn mit Rücksicht auf die Doppelkerne oder Kerne von doppelter Chromosomenzahl als 2 x-Generation).

Modifikationen treten auf:

1) Es kann die Uredo wegfallen; aus der Aecidiospore entsteht dann direkt ein teleutosporenbildendes Mycel. Solche Uredineen nennt man nach J. Schröters Vorschlag Opsis-Formen (z. B. Pucciniopsis).

2) Es fallen die Aecidien weg; aus der Basidiospore entsteht ein Mycel, das zuerst Pykniden und später Uredo produziert. Solche Formen nennt man Brachyformen. Die Zellfusion, durch welche die Zweikernigkeit der Zellen zustande kommt, müßte in diesem Falle natürlich vor der Uredosporenbildung vor sich gehen.

3) Es fehlen Aecidien und die Uredo; aus den Basidiosporen entsteht direkt wieder ein teleutosporenbildendes Mycel mit oder häufiger ohne Pykniden. Die Formen nennt man Mikro- oder Leptoformen, je nachdem die Teleutosporen nach Ueberwinterung oder sofort nach ihrer Entstehung Basidien bilden. Die Bildung der Zellen mit Synkaryon dürfte sich hier in dem teleutosporenbildenden Mycel vor der Bildung der Teleutosporen abspielen.

Es treten also Vereinfachungen jeder der beiden Generationen auf. Welche Bedeutung kommt aber den besprochenen Modifikationen in der Systematik der Uredineen zu? Sie sind innerhalb einzelner Gattungen, ja sogar innerhalb engerer Artgruppen vertreten (z. B. in der sehr natürlichen Gruppe, wozu die auf den Umbelliferen wohnenden Formen gehören). Man findet, daß die Unterschiede

im Entwickelungsgange phylogenetisch junge Merkmale darstellen; die Species, welche man nach diesen Merkmalen auseinanderhält, können gewissermaßen als Species in statu nascendi bezeichnet werden. Vielleicht erweckt dies die Hoffnung, daß es für sie gelingen könnte, die Faktoren festzustellen, welche bei ihrer Entstehung im Spiele waren. Ein solcher Faktor sind klimatische Verhältnisse. Die alpine Form weist gegenüber derjenigen der Ebene eine starke Verkürzung der Uredobildung und ein früheres Auftreten der Teleutosporenbildung auf (z. B. Melampsora Evonymi-Incanae der Ebene und M. Larici-Reticulatae der Alpen). Wie sind nun diese Anpassungsmerkmale bei den Uredineen zustande gekommen? Von der plausiblen Voraussetzung ausgehend, daß ursprünglich alle Uredineen sämtliche Sporenformen besessen haben, muß man annehmen, daß unter Einfluß klimatischer Faktoren einzelne Fruchtformen (vor allem die Uredo) in ihrer Entwickelung zurückgedrängt oder zum völligen Verschwinden gebracht worden seien. Dies kann man sich auf zweierlei Art vor sich gegangen denken:

a) Indirekt durch Selektion. Die Uredineen hätten ursprünglich schon eine gewisse Variabilität besessen in dem Sinne, daß die einen Individuen eine etwas länger andauernde Uredobildung und eine etwas spätere Entwickelung der Teleutosporen zeigten als andere. In alpinen Gebieten konnten nun nur diejenigen Varianten den Winter überdauern, welche zur früheren Teleutosporenbildung neigten; nur sie blieben erhalten und vererbten ihre Eigenschaften auf die Nachkommen. Es entstanden so nach und nach die heutigen Formen mit ± verkürztem Entwickelungsgange.

b) Direkte Einwirkung der äußeren Faktoren brachte die Modifikationen hervor: Die ursprünglichen Uredineen besaßen die Fähigkeit, durch äußere Einwirkungen direkt in ihrer Entwickelung beeinflußt zu werden. Sie waren befähigt, auf nächtliches starkes Sinken der Temperatur durch Unterdrückung der Uredobildung zu reagieren. Und die andauernde Einwirkung solcher klimatischer Einflüße an alpinen Standorten hätte dann schließlich eine erbliche Fixierung dieser Verkürzung der Entwickelung herbeigeführt.

Die Entscheidung dieser Alternative ist nun, wenigstens bis zu einem Grade, dem Experimente zugänglich. Die zweite (oben unter b bezeichnete) Annahme würde viel gewinnen, wenn es gelingen würde, noch heute Uredineen zu finden, die in ihrem Entwickelungsgange von äußeren Einwirkungen beeinflußt werden. Nun liegen von R. S. Smith und Boris Iwanoff Beobachtungen vor. Ersterer erkannte bei Puccinia Asparagi, daß große Lufttrockenheit nicht nur die Infektion hindert, sondern auch die Aecidien- und Uredobildung hemmt, während umgekehrt reichlicher Taufall die Entwickelung dieser Sporenformen fördert. Letzterer experimentierte im Hochgebirge und in der Ebene mit Puccinia Pimpinellae, P. Violae, P. Galii und P. Čelakovskyana. Es zeigte sich, daß diese Uredineen unter direktem Einfluß äußerer Einwirkungen ihren Entwickelungsgang verkürzen, also einen Entwickelungstypus zeigen, der bei anderen Uredineen ein erbliches Speciesmerkmal darstellt.

Verf. selbst warnt vor falschen Verallgemeinerungen:

1) Bei Entstehung verkürzter Entwickelungsgänge kommen nicht immer die gleichen Faktoren in Betracht. Man kennt z. B. Uredineen, denen Aecidien und Uredoformen fehlen, auch außerhalb der Alpenregion

(Mikroformen in wärmeren Gebieten auf Frühlingspflanzen mit rasch vergänglichen Blättern).

2) Die Anpassungserscheinung ist nach Detto nicht in der Verkürzung der Entwickelung zu suchen, sondern vielmehr in der Plastizität, die wir bei den Uredineen vorausgesetzt haben, zu suchen. In Fällen, wo die Verkürzung des Entwickelungsganges Speciesmerkmal geworden ist, würde es sich (nach Detto) nur um „Fixierung eines Regulationseffektes durch Verlust anderer Einstellungen" handeln.

3) Es soll auch nicht gesagt werden, daß nun alle bei den Uredineen vorkommenden Modifikationen des Entwickelungsganges Anpassungserscheinungen sein müssen. Es ist vielmehr gar nicht ausgeschlossen, daß es auch solche gibt, die zum Milieu in keiner Beziehung stehen.

Matouschek (Wien).

Jahn, E., Myxomycetenstudien. (Berichte der Deutsch. Botan. Gesellsch. Jahrg. XXV. 1907. p. 23—26.)

Die Arbeit befaßt sich mit Kernverschmelzungen und Reduktionsteilungen. Strasburger (1884) zeigte, daß kurz bevor das Plasma in Sporen zerfällt, eine indirekte Teilung sämtlicher Kerne bei Trichia fallax stattfindet. A. Lister und Harper stimmen darin überein, daß die Karyokinese durchaus derjenigen einer Metaphyten- und Metazoenzelle gleicht. Degenerierte Kerne in jugendlichen Sporangien wiesen Lister und Helene Kränzlin nach. Die großen Kerne verdankten ihre Größe der Entstehung aus 2 einzelnen verschmolzenen Kernen. Damit war der Ursprung der degenerierten Kerne aufgeklärt: In jungen Fruchtkörpern der Myxomyceten findet eine Karyogamie statt. Diejenigen Kerne, die dabei keinen (oder zu spät einen) Partner finden, verfallen der Degeneration. Verf. befaßte sich nun mit dem Verlaufe und der Bedeutung der Karyogamie. Es zeigte sich, daß bei den echten Myxomyceten die Sporenruhe zwischen die beiden Kernteilungen des Reduktionsprozesses fällt. Bei Protophyten (namentlich bei Pilzen) ist sonst der Fall häufiger, daß die Sporenbildung gleich nach der Karyogamie erfolgt. Ceratiomyxa verhält sich, da sie eine sehr primitive Form ist, anders: das Plasmodium kommt aus dem Substrate heraus, verzweigt sich geweihartig und bildet auf der Oberfläche der Hörnchen dieses Geweihs gestielte Sporen. Biologisch sind die Fruchtkörper hier also gleichwertig denen mancher niederer Basidiomycetengattungen (z. B. Clavaria). Karyogamie findet bei diesem Genus aber auch statt, nur daß statt der Eukaryokinese und der Schwärmerteilung der übrigen Myxomyceten im ganzen 5 Karyokinesen stattfinden. Nur die ersten beiden dürfen als homolog den beiden der anderen Gattungen betrachtet werden. Die Spore eines gewöhnlichen Myxomyceten ist also gleichwertig dem Tochterkern der ersten Mitose bei Ceratiomyxa, und diesem Kerne entsprechen 2 vierkernige Sporen dieser Gattung. — Bei allen Myxomyceten ist die Generation mit doppelter Chromosomenzahl von sehr kurzer Dauer. Nur während der Bildung der Fruchtkörper ist stets die doppelte Chromosomenzahl vorhanden. Bei Protophyten (Pilzen und Algen) sind die Fälle tatsächlich beobachteter Reduktionsteilungen noch ziemlich spärlich (Coleochaete, Trypanosoma, Didinum nasutum, Pelomyxa). Vielleicht stellt Pelomyxa (Rhizopode), Ceratiomyxa und die höheren Formen der Myxomyceten Gattungen vor, die von Gliedern einer Entwickelungsreihe ausgegangen sind. In der fortschreitenden Anpassung an die Aus-

streuung der Sporen durch die Luft ist der Sexualakt weiter umgestaltet und vereinfacht worden. Matouschek (Wien).

Appel, Otto, Beiträge zur Kenntnis der Kartoffelpflanze und ihrer Krankheiten. I. (Arbeiten aus der k. biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. V. Heft 7.)

Verf. gibt zunächst einen Ueberblick über die Geschichte der Kartoffelkrankheiten, nicht um jede einzelne Arbeit aus diesem Gebiet zu erwähnen, sondern um vor allen Dingen das hervorzuheben, was für die Beurteilung der heutigen Verhältnisse von Wichtigkeit ist.

Verf. unterscheidet 3 große Zeitabschnitte. Den Anlaß zu der ersten Gruppe von Arbeiten (ca. 1770—1820) gab die große Epidemie am Ende des 18. Jahrhunderts. Das Krankheitsbild wird in diesen Arbeiten gar nicht oder nur ungenau beschrieben, so daß sich nicht mit Bestimmtheit sagen läßt, welcher Art diese damals „Kräuselkrankheit" genannte Krankheit war. Vermutlich handelte es sich aber um eine Infektionskrankheit, die mit einer neu eingeführten Viehkartoffel eingeschleppt wurde; denn in den meisten Arbeiten wird betont, daß der „Mißwachs" nur in den Gegenden auftrat, in denen die neu eingeführte Kartoffel angebaut wurde. Sehr verschieden sind die Erklärungen, die die Autoren dieses ersten Zeitabschnittes für das Auftreten der Epidemie geben. Die einen sehen in der Krankheit eine Degenerationserscheinung, die durch die fortgesetzte ungeschlechtliche Vermehrung hervorgerufen wird; andere glauben, daß die Fundbestäubung mit der neu eingeführten Sorte auf die Knollen derselben Generation schädlich einwirke. Natürlich werden auch vielfach Tiere und ungünstige Boden- und Witterungsverhältnisse für die Krankheit verantwortlich gemacht.

Die zweite Periode (bis ca. 1857) wird durch eine Arbeit von Martius eingeleitet, der die „trockene Stockfäule" näher untersucht. Er sieht in ihr eine „Pflanzenepidemie mit Contagium", die „mit der Erzeugung eines eigentümlichen Pilzes (Fusisporium Solani) endigt". Den Keimen dieses Pilzes schreibt Martius die Fähigkeit zu, „prädisponierte Knollen so zu affizieren, daß sie ebenfalls in Stockfäule verfallen". Ein klares Bild von der Krautfäule gibt Harting, der als Erreger der Krankheit Botrytis Solani (Phytophthora) erkennt. Aus den Angaben von der Uebertragung der Kartoffelkrankheiten durch das Saatgut schließt Verf., daß in der damaligen Zeit anch Krankheiten vom Typus der Blattrollkrankheit und Bakterienringkrankheit aufgetreten sind.

In dem letzten Zeitabschnitt ist auch die Arbeit von Speerschneider hervorzuheben, der durch Infektionsversuche feststellte, daß die Fäulnis der Knolle in Zusammenhang steht mit der Erkrankung des Krautes und daß Phytophthora der Erreger der Krankheit ist. De Bary verdanken wir die genaue Kenntnis der Phytophthora. Wehmers Einwände gegen die Bedeutung der Phytophthora sind durch die erfolgreichen Versuche Heckes widerlegt.

Als Erreger der Schwarzbeinigkeit wurde vor wenigen Jahren vom Verf. Bacillus phytophthorus gefunden, der bald darauf auch in Frankreich von Delacroix nachgewiesen wurde. Andere Bakterienkrankheiten wurden von Kramer, Frank u. A. beschrieben. Im vergangenen Jahre beschrieb Verf. endlich noch eine neue Kartoffelkrankheit unter dem Namen „Blattrollkrankheit"; sie wird von einem Fusarium hervorgerufen, das in den Gefäßen wächst und dieselben gelb färbt. Der Pilz breitet sich von der Mutterknolle aus in der ganzen

Pflanze aus und verursacht eine Mißernte. Eine reichhaltige Literaturübersicht schließt den historischen Ueberblick.

Gemeinschaftlich mit Laubert veröffentlicht Verf. neue Untersuchungen über Phellomyces sclerotiophorus, von dem bisher nur die vegetative Form bekannt war. Den Verff. gelang es, die Konidien des Pilzes zu finden; aus dem schwarzen Stroma entwickeln sich nämlich borstenförmige Konidienträger, die in Wirteln angeordnete dunkle keulenförmige mehrzellige Konidien tragen. Die Konidien keimen nach ca. 40 Stunden im Wasser aus und zwar meist am spitzen Ende.

Der Pilz gehört demnach zu der Gattung Spondylocladium und zwar stimmt er mit dem von Harz beschriebenen Sp. atrovirens überein. Nach den Versuchen der Verff. hat der Pilz als Schädling keine größere Bedeutung, da er „unter gewöhnlichen Umständen weder von der Schale noch von Wundstellen aus das gesunde Gewebe der Kartoffel zerstört“.

Mit Bruck zusammen hat Verf. Untersuchungen über den Parasitismus von Stysames Stemonitis angestellt. Dieser Pilz, der meist in Gemeinschaft mit Parasiten und Saprophyten auf den Kartoffelknollen angetroffen wird, wurde bisher als Saprophyt angesprochen. Den Verff. gelang es durch Infektionsversuche nachzuweisen, daß Stysames Stemonitis an Wundstellen in das Gewebe der Kartoffel einzudringen vermag. Auch wenn unverletzte Kartoffeln infiziert wurden, ließ sich in der obersten Zellreihe der Korkschicht spärliches Mycel nachweisen. Der Pilz vermag also in das gesunde Gewebe einzudringen, und wenn er auch selbst nicht erheblichen Schaden anrichtet, so schafft er doch Eingangspforten für andere Schädlinge. In Kulturen auf sterilisiertem Brot konnten die Verff. eine bisher noch nicht beschriebene Konidienform nachweisen. Es zeigten sich flaschenförmige Konidienträger, welche die gewöhnlichen elliptischen Sporen abschnürten. Riehm (Steglitz).

Oertel, G., Phoma kühniana. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. p. 431.)

Verf. beschreibt einen in Thüringen sehr selten auftretenden Pilz, welcher seine Fruchtgehäuse auf den Ausläufern von Viola odorata bildet. Der Pilz ist weder mit Ph. violicola Syd. noch mit Ph. violae triciloris Diedicke identisch. Neger (Tharandt).

Flügge, Bedingen Hausschwammwucherungen Gefahren für die Gesundheit der Bewohner des Hauses? (Hausschwammforschungen. 1907. Heft 1.)

Verf. beantwortet zunächst die Frage nach der Erregung parasitärer Krankheiten durch Hausschwammsporen dahin, daß nach statistischen Untersuchungen für Breslau eine Begünstigung des Auftretens von Carcinom durch den Hausschwamm nicht nachzuweisen war, daß weiterhin aber nicht nur Einatmung von Sporen, oder Genuß von solchen und von Mycelstücken nach Hartig und Gotschlich ohne schädliche Folgen verblieb, sondern sogar die üppigsten Hausschwammkulturen überhaupt die Temperatur des Warmblüters nicht ertragen, Sporen bei ihr nicht auszukeimen vermögen.

In seinen weiteren Ausführungen kommt Verf. zu dem Schluß, daß Hausschwammwohnungen vom hygienischen Standpunkt in erster Linie deshalb zu beanstanden sind, weil der Pilz ein Indikator für gesundheitsschädliche Feuchtigkeitsverhältnisse der Wohnung ist; in zweiter Linie

deshalb, weil bei der Fäulnis größere Hausschwammwucherungen ekelerregende Gerüche entstehen. Ehrenberg (Breslau).

Möller, Hausschwammuntersuchungen. (Hausschwammforschungen. 1907. Heft 1.)

Verf. berichtet zunächst über ein Vorkommen von Hausschwamm im Walde, wobei sich reiche Fruchtkörperbildung an alten Wurzeln, aber auch zwischen den Borkeschuppen einer völlig gesunden 100-jährigen Kiefer, und endlich auch zwischen der Steinbeschüttung einer Böschung zeigte. Beachtenswert erscheint auch, daß sogar eine Verwundung der oben erwähnten Kiefer nicht zu einem Eindringen des Pilzes in das lebende Holz geführt hatte.

Verf. behandelt im Anschluß an seine Beobachtungen die Frage, ob es sich hier um Hausschwamm handeln könne, der von einem nahegelegenen Hause in die freie Natur eingewandert ist, kommt aber im Anschluß an Falcks in dieser Zeitschrift bereits referierte neueste Feststellungen zu der Ansicht, daß es sich hier um den Merulius silvester gehandelt haben dürfte.

In weiteren Angaben über die Keimung der Hauschwammsporen, die am reichlichsten in einer Lösung von 1 Proz. phosphorsaurem Ammoniak in verdünntem Malzextrakt bei 25° gelang, und in denen Behauptungen von Malenkowitsch (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1904. p. 101) zurückgewiesen werden, wird mitgeteilt, daß Sporen des Hausschwammes noch nach 17 Monaten in ganz normaler Weise, als wenn sie frisch aufgefangen worden wären, auskeimten. Die nun folgenden Daten über Wirkung verschiedener Nährmedien auf Sporen können hier im einzelnen nicht wiedergegeben werden, doch sei hervorgehoben, daß es Verf. bisher in keiner Weise gelang, Hauschwammsporen auf gesundem, feuchtem Holze zum Keimen zu bringen. Weitere Seiten sind der Coniophora cerebella gewidmet, deren Schnallenbildung eingehend beschrieben und deren Verwechslung mit Merulius an der Hand von Beispielen gedacht wird. Wichtig ist es, daß die eigenartigen Schnallenbildungen der Coniophora bei Merulius, wie bei Polyporus vaporarius nicht vorkommen, wie weiter die beiden letztgenannten Holzzerstörer sich dadurch voneinander zu unterscheiden scheinen, daß unter anderen Fadenbrücken (Anastomosen) bei Polyporus vaporarius häufig zu sein, bei Merulius zu fehlen scheinen. Endlich werden auch stereoskopische Vergrößerungen der Fruchtkörper der wichtigsten holzzerstörenden Pilze gegeben. Ehrenberg (Breslau).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mohr, Ueber die Anlage und sanitätspolizeiliche Kontrolle von Brunnen. (Aerztl. Sachverständigenztg. No. 9 und 10. 1907.)

Die Grundlage für eine hygienische Beurteilung des Wassers liefert die gewissenhafte und umsichtige Untersuchung aller örtlichen Verhältnisse, denen das betreffende Wasser seine Eigenschaften verdankt, dann erst kommt die physikalische, chemische und vor allem die bakteriologische Untersuchung des Wassers in Betracht, welche über die Filtrationsleistung des Bodens Aufschluß gibt.

Ein Brunnen muß so angelegt sein, daß er sein Wasser aus einem

Vorrat schöpft, der keine Krankheitskeime enthalten kann, und daß nicht bei der Erschließung und Entnahme des Wassers solche nachträglich in dasselbe gelangen können. Keimfreies Wasser ist in gewachsenem, feinkörnigem Boden in einer Tiefe von 2 m abwärts als Grundwasser anzutreffen.

Den Röhrenbrunnen gebührt vor den Kesselbrunnen der Vorzug, weil man aus ihnen mit größerer Sicherheit keimfreies Wasser entnehmen kann.

Die Sanitätspolizei muß bei der Begutachtung einer Anlage eines Brunnens berücksichtigen:

a) die Oertlichkeit, namentlich die Entfernung von menschlichen Wohnstätten,

b) die Konstruktion der Brunnen. Mühlschlegel (Stuttgart).

Henry, E., Préservation des bois contre la pourriture par le sol, les champignons et les insectes. Recherches sur la valeur comparative de divers antiseptiques. 96 p. mit 10 Tafeln in Phototypie. Paris und Nancy (Berger-Levrault & Co.) 1907. 4 frcs.

In der vorliegenden Arbeit beschreibt Henry die am Holze durch Pilze und Insekten hervorgerufenen Veränderungen; dabei verbreitet er sich besonders über die von ihm seit mehreren Jahren ausgeführten Versuche über den relativen Wert verschiedener Antiseptika, die zur Konservierung des Holzes in den Handel gebracht werden. Er will zeigen, daß auch die kleinsten Geschäftsleute ohne große Kosten, ohne teure Einrichtungen alles von ihnen verwendete Holz für lange Zeit vor Fäulnis schützen können, auch unter den ungünstigsten Verhältnissen, und daß sie ein sehr wesentliches pekuniäres Interesse daran haben, Antiseptika zu verwenden; die zu diesem Zwecke geeigneten führt er auf. Klar und überzeugend sucht er jedem diese Tatsache verständlich zu machen, besonders Architekten, Unternehmern, Hauseigentümern, Erbauern von Schuppen, diejenigen, die Gerüste, Pfähle, Bretter, Verschläge u. s. w. brauchen, mit einem Worte, allen, welche Holz verwenden. Ohne auf die teueren Einrichtungen mit Apparaten zur Injektion im luftleeren Raum oder durch mechanischen Druck einzugehen, wie sie große Fabriken, Eisenbahngesellschaften oder reiche Unternehmer besitzen, erklärt der Verf. einfach, wie der erste beste Arbeiter mit seinem primitiven Handwerkszeug zur Bestreichung oder zum Baden beispielsweise von Bauholz schreiten kann. Dies muß zur Gewohnheit werden und die Praxis wird bald Mißerfolge vermeiden lehren.

Seine Versuche haben sich auf Tannen-, Fichten-, Eichen-, Buchen-, Pappelholz erstreckt; dasselbe wurde in Würfel oder Scheiben geschnitten, 24 Stunden in ein Bad aus dem zu untersuchenden Antiseptikum gelegt und dann mehrere Jahre lang teils an freier Luft, teils geschützt in eine Art Faulraum gebracht. Die erstere Aufbewahrungsart entspricht zum Beispiel in den Boden eingelassenen Hölzern, die zweite im Hause eingeschlossenem Holze, wo, wie bekannt ist, das Umsichgreifen des gefährlichen Merulius besonders zu befürchten ist. Im ersteren Falle hatten Lysol, Antinonnin, Fluorwasserstoffsäure keine Wirkung; die Probestücken, die mit den genannten Flüssigkeiten in Berührung gewesen waren, sind ebenso zerstört worden, wenn nicht noch mehr, als die Kontrollstücke.

Dagegen waren Eichen-, Alepfichten-, Buchen-, Pappelholzstücken, die mit Karbolineum Avenarius, Karbolineum Lion, Teer oder Mikrosol behandelt waren, ebenso gesund wie zu Beginn der Versuche.

Im zweiten Falle fielen die Versuche vollkommen zu Gunsten der fünf Holzarten aus, wenn sie mit Karbolineum Avenarius, Karbolineum Lion, Teer oder Mikrosol behandelt waren. Teer ist das am wenigsten sicher wirksame von diesen Präparaten, denn bei der kleinsten Kontinuitätstrennung ist eine Eingangspforte für die Feinde geschaffen. Bei Antinonnin und Fluorwasserstoffsäure ist die Wirksamkeit verschieden, je nachdem, ob man es mit Holz zu tun hat, das der feuchtwarmen Atmosphäre von Bergwerksgängen oder den freien Witterungseinflüssen ausgesetzt ist. Im letzteren Falle ist die Wirkung gleich Null; im Gegenteil ist das Holz empfänglicher, wenn es geschützt verwendet wird.

Zweifellos sind das Karbolineum und das Mikrosol als Sieger aus dem Wettkampfe hervorgegangen, den der Verf. angestellt hat. Ohne daß man einem von ihnen den vorbehaltslosen Vorzug geben könnte, zeigt sich, daß je nach den Verhältnissen dieses oder jenes seine Vorteile hat. So konnte Verf. zeigen, daß das Mikrosol bei Verwendung im Innern von Häusern wesentliche Vorzüge vor den Karbolineen hat, die ihrerseits für Holz an freier Luft zu verwenden sein würden.

Auf 10 Tafeln in Phototypie sind die zum Versuche verwendeten Hölzer abgebildet, so daß jeder sich selbst davon überzeugen kann, inwieweit sich vermittelst der einzelnen versuchten Antiseptika eine Konservierung gegen Fäulnis erreichen läßt. J. Beauverie (Lyon)

Luerssen, Artur, Die Unbrauchbarkeit der Zitronensäure zur Desinfektion der Milch. (Deutsche medizin. Presse. 1907. No. 18.)

L. prüfte die — gewöhnlich vorausgesetzte — bakterientötende Kraft der Zitronenmilch, d. h. gesüßter und mit Zitronensaft oder -Säure zur Gerinnung gebrachter Milch. Er erhielt bei Zusatz der gebräuchlichen Menge Zitronensäure: 1,25 — 1,0 — 0,75 — 0,5 g zu 100 ccm Milch negative Resultate. Die minimale Resistenzdauer war für

Cholera: 2 bis 3 — 2 bis 3 — 4 — 24 Stunden;
Diphtherie: 10 bis 12 Stunden — 9 Stunden bis 3 Tage — 4 Tage — 5 Tage;
Typhus: 4 — 4 bis 5 — 4 bis 6 — über 7 Tage;
Paratyphus B: 5 — 7 — über 7 — über 7 Tage;
Dysenterie Shiga: 4 bis 5 — 5 bis 6 — 5 bis 6 — 6 bis 7 Tage;
Dysenterie Flexner: 6 — 6 bis 7 — über 7 — über 7 Tage.

In Zitronenlimonade (nach Riegel 0,6 g Zitronensäure auf 100 ccm 5 Proz. Rohrzuckerwasser) fand er wie Riegel viel geringere Resistenzzeiten, nämlich bei Cholera 5 Minuten, Diphtherie 4 Stunden, Typhus 17 Stunden, Paratyphus B 8 Stunden, Dysenterie Shiga 4—6 Stunden, Dysenterie Flexner 6—10 Stunden. Die größere Widerstandsfähigkeit der pathogenen Keime in gesäuerter Milch erklärt L. auf Grund besonderer Versuche dadurch, daß die Keime in die Käsegerinnsel eingeschlossen und vor dem in der Molke befindlichen Säureüberschuß geschützt werden. Zitronenmilch aus roher Milch bietet also keine Gewähr vor Ansteckung, dagegen ermöglicht die Zitronenmilchbereitung eine größere Verwendung gekochter Milch, da durch die Säuerung der Kochgeschmack verdeckt wird. Autoreferat.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Worthmann, Untersuchungen über die Eijkmansche Probe und ein eigenartiges, Gärung erregendes Bakterium. (Mitt. der königl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung etc. Heft 9. 1907.)

Mit stark verdünnten Fäkalienaufschwemmungen erhielt Verf. bei der Verarbeitung von 1 ccm zur Eijkmanschen Probe mitunter keine Vergärung, während 100 ccm einen positiven Ausfall ergaben. Aus jedem Stuhl konnten mehrere Coli-Stämme gezüchtet werden, von denen einige bei 37° prompt Traubenzucker vergärten, dagegen nicht bei 46° trotz lebhaften Wachstums. In jedem Stuhl ist aber mindestens ein Stamm vorhanden, der bei 46° einen positiven Ausfall der Probe ergibt. In schlechten Brunnenwässern und in Wasserproben aus Seen, die keine Vergärung ergaben, konnte der Verf. kein Coli trotz Anreicherung mit Bouillon finden, es ist ihm daher wenig wahrscheinlich, daß ein Eijkman-negatives B. coli für sich allein vorkommt. Verf. hat sich dann mit einem von Kurpjuweit aus Eijkman-positiven Proben gezüchteten Bacillus beschäftigt und dessen Eigenschaften genauer festgestellt. Dieser verhält sich genau wie das Bact. enteritidis Gaertner, auch auf allen üblichen Nährböden, und unterscheidet sich nur darin von letzterem, daß er in Bouillon reichlich Indol bildet. Fernerhin hatte Kurpjuweit bei Abwasserdesinfektionsversuchen nach sicherem Absterben der darin enthaltenen Coli-Keime noch einen positiven Ausfall der in diesem Falle mit Milchzuckerpeptonwasser angestellten Eijkmanschen Probe erhalten und eine Reihe von Kulturen gezüchtet, deren weitere Untersuchung von dem Verf. fortgesetzt wurde. Er stellte dabei fest, daß es sich um Milchkulturen handelte, in denen vereinzelte schlanke Stäbchen neben Subtilis und Kokkenkolonieen vorkamen. Diese Stäbchen wuchsen nur anaërob. Sie bildeten auf Agar farblose, durchsichtige Auflagerungen mit dendritischen Ausläufern. Sie waren Sporenbildner. Die Gram-Färbung war positiv. Die Kulturen waren sehr hinfällig und konnten nie über die dritte Generation fortgezüchtet werden. In Milchzuckerpeptonwasser wurde sowohl bei 37° wie bei 46° lebhaft Gas gebildet, dagegen nicht in Traubenzuckerpeptonwasser.

In der Mischkultur mit einem Subtilis-Stamm ließen sich die biologischen Eigenschaften des Bacillus leichter feststellen, von verschiedenen Kohlehydraten wurden Laktose, Dextrin und Mannit vergoren.

Verf. kommt zu folgenden Schlußsätzen:

1) Es gibt zwar viele Stämme des Bact. coli, die einen negativen Ausfall der Eijkmanschen Probe geben; doch kommen dieselben anscheinend stets mit solchen in Gemeinschaft vor, die bei 46° Gas zu bilden vermögen.

2) Die Eijkmansche Probe wird daher bei Wässern, die fäkaler Verunreinigung ausgesetzt waren, stets positiv ausfallen, wenn genügende Mengen des Wassers zur Anstellung der Probe verwendet werden.

3) Es gibt eine Reihe von Bakterien außer Bact. coli, die einen positiven Ausfall der Eijkmanschen Probe bedingen; doch kommen dieselben als Fehlerquellen nicht in Betracht.

4) Eines unter diesen, „Bacillus aërogenes paradoxus“, besitzt die zu der herrschenden Anschauung in Widerspruch stehende Eigenschaft, aus Milchzucker Gas zu bilden, aus Traubenzucker aber nicht.

Kurpjuweit (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Kehrig, H., Les oiseaux et les insectes au point de vue agricole. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 731. p. 696—697.)

Lindau, G. et **Sydow, P.**, Thesaurus litteraturae mycologicae et lichenologicae ratione habita praecipue omnicum quae adhuc scripta sunt de mycologia applicata quem congesserunt L. et S. Vol. I. Pars 1. Leipzig (Borntraeger) 1907. 400 p. 8°. 31,25 M.

Massee, George, A text-book of plant diseases caused by Cryptogamic parasites. London (Duckworth and Co.) 1907. 3. edit. XX, 472 p. 95 Fig. 6 s.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Flexner, L., Direct silver staining of Spirochetes and flagellated Bacteria. (Proc. Soc. for exper. biol. and med. Vol. IV. 1907. N. 6. p. 122.)

Harvey, W. Henwood, A Dust-excluding Histological Reagent Bottle. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 3. p. 280. 1 Fig.)

Heimstädt, Oskar, Neuerungen an Spiegelkondensoren. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 3. p. 233—242. 7 Fig.)

Henneberg, Hilfsapparate zum Mikrotom. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 3. p. 274—277. 2 Fig.)

Kappers, C. U. Ariëns, Auf welchem Grunde beruht es, daß die schnelle Abkühlung des Paraffins für histologische Einbettungen günstig ist? (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 3. p. 254—257. 1 Fig.)

Proca, G., Sur l'emploi de milieux bactériens stérilisés pour la culture des anaérobies. (Compt. rend. soc. biol. T. LXIII. 1907. N. 36. p. 620—621.)

Schouten, S. L., Methode zur Anfertigung der gläsernen Isoliernadeln, gehörend zu dem Isolierapparat für Mikroorganismen. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV. 1907. Heft 3. p. 258—268. 16 Fig.)

Trincas, L., Nuovo metodo per la colorazione dei granuli metacromatici e delle spore dei batteri. (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXIX. 1907. N. 11. p. 492—502.)

Troester, C., Eine neue Mikroskopierlampe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 6. p. 574—575. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Börner, Carl, Systematik und Biologie der Chermiden. (Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. N. 14. p. 413—428.)

Gruber, Beitrag zur Bakterienerkenntnis in der Konservenindustrie. (Konserven-Ztg. Jg. 1907. N. 51. p. 822.)

Hancock, J. L., Studies on the Tetriginae (Orthoptera) in the Oxford University Museum. (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 213—244. 1 Taf.)

Klimenko, W. N., Bacterium mariense (nov. spec.), ein neuer Alkalibildner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 6. p. 481—495.)

Kuwana, S. J., Coccidae of Japan 1. A synoptical list of coccidae of Japan with descriptions of thirteen new species. (Bull. of the Imper. Central Agric. Experiment Stat. Japan. Vol. I. 1907. N. 2. p. 177—207. 6 Taf.)

—, Coccidae of Japan 2. A new Xylococcus in Japan. (Bull. of the Imper. Central Agric. Experiment Stat. Japan. Vol. I. 1907. N. 2. p. 209—212. 1 Taf.)

Mercier, L., Sur la mitose des cellules à Bacillus cuenoti. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 20. p. 833—835.)

Nijdam, H. W. M., Aerobacter tartarivorum. (Thèse de doct. Leyden, Juni 1907.)

Schreiner, J. T., Zwei neue interessante Parasiten der Apfelmade Carpocapsa pomenella L. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. III. 1907. Heft 7. p. 217—220. 1 Fig.)

Strasser, P. Pius, Vierter Nachtrag zur Pilzflora des Sonntagberges (N.-Oe.), 1904. (Verh. d. k. k. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. LVII. 1907. Heft 6/7. p. 299—320.)

Uswin, Ernest Ewart, The vinegar-fly (Drosophila funebris). (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 285—302.)

Biologie.

Alilaire, E., Sur la présence du phosphore dans la matière grasse des microbes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 24. p. 1215—1217.)

Conte, A. et **Faucheron, L.**, Présence des levures dans le corps adipeux de divers Coccides. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 24. p. 1223—1225.)
Crawshay, G. A., The life history of Tetropium gabrieli Ws. = T. fuscum, Sharp = T. rawshayi, Sharp etc. (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 183—212. 6 Taf.)
Dixey, F. A. and **Longstaff, G. B.**, Entomological observations and captures during the visit of the British Association to South Africa in 1905. (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 309—381. 1 Taf.)
Gage, Stephen de M., On the significance of the numbers of bacteria in water and sewage developing at different temperatures. (38. Ann. Rep. of the Mass. State Board of Health. 1906. p. 325—349.)
Haas, Die Bildung von Gummi in der Weinrebe und die „Gommose bacillaire". (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 49. p. 573—575; N. 50. p. 586—587.)
Hansen, Emil Chr., Ueber die tötende Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 5. p. 466—480.)
Hayduck, Fritz, Ueber Giftwirkungen von Getreide auf Hefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 49. p. 673—679; N. 50. p. 685—692; N. 51. p. 706—714; N. 52. p. 746—755.)
Hori, S., Seed infection by smut fungi of cereals. (Bull. of the Imper. Central Agric. Experiment Station Japan. Vol. I. 1907. N. 2. p. 163—175.)
Javillier, Maurice, Sur l'influence de petites doses de zink sur la végétation du Sterigmatocystis nigra V. Tgh. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 24. p. 1212—1215.)
Kershaw, J. C. and **Muir, Frederick**, On the egg-cases and early stages of some South China Cassidae. (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 249—258. 1 Taf.)
Koch, W. and **Reed, S.**, The relation of extractive to protein phosphorus in Aspergillus niger. (Journ. of biol. chem. T. III. 1907. p. 49—52.)
Kuwana, S. J., Notes on the life history and morphology of Gossyperia ulmi Geoff. (Bull. of the Imp. Central Agric. Experiment Stat. Japan. Vol. I. 1907. N. 2. p. 213—231. 2 Taf.)
Lesage, Pierre, Action du champ magnétique de haute fréquence sur le Penicillium. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 25. p. 1299—1300.)
Löhnis, F. und **Sabaschnikoff, A.**, Neue Untersuchungen über die Zersetzung und die Wirkung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LVII. 1908. Heft 1. p. 15—29.)
Menini, Giorgio, Ricerche intorno alla penetrazione dei batteri nelle uova di gallina. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno LXI. 1907. Fasc. 6. p. 711—730.)
Miall, L. C. and **Taylor, T. H.**, The structure and life-history of the Holly-fly. (Trans. Entomol. Soc. London 1907. P. 2. p. 259—283. 20 Fig.)
Mirande, Marcel, Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques Insectes parasites des feuilles. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 25. p. 1300—1302.)
Przibram, Hans, Die Lebensgeschichte der Gottesanbeterinnen (Fang-Heuschrecken). (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. III. 1907. Heft 5/6. p. 147—153. 28 Fig.)
Schroeder, H., Ueber den Einfluß des Cyankaliums auf die Atmung von Aspergillus niger, nebst Bemerkungen über die Mechanik der Blausäurewirkung. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIV. 1907. Heft 3. p. 409—481. 2 Fig.)
Sergent, Edmond, Des tropismes du Bacterium Zopfii Kurth. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 11. p. 842—850. 12 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

de Pauliny, La purification de l'eau potable et l'épuration des eaux d'égout et des eaux résiduaires par voie biologique. (Compt. rend. 2. Congrès int. à Genève 1906. Assainissement et salubrité de l'habitation Paris 1907. p. 716—734.)
Ternetz, Charlotte, Ueber die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffes der Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLIV. 1907. Heft 3. p. 353—408. 2 Fig.)

Milch, Molkerei.

Buttenberg, P. und **Guth, F.**, Ueber Camembertkäse. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVII. 1907. N. 50. p. 591—592.)
Hewlett, R. Tanner, The problem of a pure milk supply. (Journ. R. Instit. of public health. Vol. XVI. 1908. N. 1. p. 1—9.)
(Hylkema), Ein holländisches Urteil über die niederrheinische Käserei. Uebers. von Müller-Griethausen. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XXI. 1907. N. 51. p. 1441—1442.)

Klotz, Ueber Yoghurt. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. inn. Med. Jg. XXIX. 1908. N. 2. p. 33—40.)

Martel, H., Ueber die Schädlichkeit der Milch von Kühen, die auf Tuberkulin reagiert haben. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. IV. 1908. Heft 1. p. 17—22.)

Prachfeld, Franz, Bakteriologische Untersuchung einiger Trockenmilchpräparate. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVIII. 1908. N. 1. p. 2—3.)

—, Bakteriologische Untersuchungen einiger Trockenmilchpräparate. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XVIII. 1908. Heft 4. p. 121—125.)

Pusch, Die Kindermilchproduktion in wirtschaftlicher und hygienischer Beleuchtung unter besonderer Berücksichtigung der im Rassestalle der Tierärztlichen Hochschule in Dresden gemachten Erfahrungen. (Ztschr. f. Infektionskr. d. Haust. Bd. III. 1908. Heft 5. p. 401—409. 10 Fig.)

Schoofs, F., Die Homogeneisierung der Milch. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. IV. 1908. Heft 1. p. 22—24.)

Winkler, K., Roquefortkäse. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XXII. 1908. N. 1. p. 3—5.)

Bier, Brauerei.

Brown, Horace, J., Die Stickstofffrage in der Brauerei. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 44. p. 613—615; N. 45. p. 625—628; N. 46. p. 644—648.)

Francke, Otto, Ein wichtiges Thema für Brauereien säuerlich schmeckender Biere, insbesondere für die Berliner Weißbierbrauereien. (Wchnschr. f. Brauereien. Jg. XXIV. 1907. N. 45. p. 621—624.)

Keil, H., Achtung beim Bezuge von Anstellhefe! (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXIV. 1907. N. 45. p. 617—618.)

Miškovský, Oldřich, Ueber Sarcinen, welche Bierkrankheiten verursachen. 2. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXXI. 1908. N. 1. p. 3—6.)

Thausing, Gärgefäße und Material. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXVI. 1908. N. 1. p. 2—4.)

Verfahren zum Pasteurisieren von Bier und anderen gashaltigen Flüssigkeiten. (Ztschr. f. d. ges. Kohlensäure-Ind. Jg. XIII. 1907. N. 21. p. 703—704. 2 Fig.)

Wein, Weinbereitung.

Langlade, M., Le soutirage des vins blancs. (Moniteur vinicole. Année LII. 1907. N. 95. p. 378.)

Meissner, Untersuchungen 1907er Württembergischer Traubensäfte. (Mitteilungen aus der Kgl. Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 12. p. 185—194. [enth. u. a. Verzeichnis der Krankh. u. Schädlinge].)

—, Versuche mit Reflorit. (Mitt. a. d. kgl. Weinbau-Versuchsanstalt Weinsberg.) (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 11. p. 157—167.)

—, Ueber die Klärung der 1907er Weine. (Der Weinbau. Jg. VI. 1907. N. 11. p. 168—170.)

Wagner, L., Ueber Beschädigungen durch Blitzschlag in Weinbergen. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. N. 10. p. 116—117.)

Schindler, Josef, Die künstliche Entsäuerung übermäßig saurer Weine mit reinem, gefälltem, kohlensaurem Kalk. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXIV. 1907. N. 51. p. 507—509.)

Andere Nahrungsmittel.

Bertrand, Gabriel et **Mútermilch, W.**, Recherches sur le mode de coloration du pain bis. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXI. 1907. N. 11. p. 833—841.)

Roussel, J., Survivance des bacilles pathogènes dans le pain après cuisson. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. VIII. 1907. p. 443—451.)

Suzuki, Aso, K. und **Mitarai, H.**, Ueber die chemische Zusammensetzung der japanischen Sojasauce oder „Schöyu". (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Japan. Vol. VII. 1907. N. 4. p. 477—494.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion u. s. w.

Bonjean, Ed., Le contrôle de la désinfection. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. VIII. 1907. p. 408—430.)

Christian, Aphoristische Betrachtungen über einige praktisch und theoretisch wichtige Punkte der Desinfektionslehre. Bemerk. zu einer Arb. von Kolle. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXIII. 1907. N. 48. p. 2006—2007, nebst Erwiderung von W. Kolbe.)

Franz, K., Licht als Desinficiens. (Centralbl. f. Gynäkol. Jg. XXXII. 1908. N. 1. p. 4—6.)

Hansen, Emil Chr., Ueber die tötende Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 5. p. 466—480.)

Hecker, Ueber Abwässer-Kläranlagen, mit besonderer Berücksichtigung des biologischen Systems. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XX. 1907. N. 21. p. 727—737.)

Linnartz, Praktische Winke zur Seifenspiritusdesinfektion. Angabe eines Seifenspirituswaschtisches. (Centralbl. f. Chir. Jg. XXXIV. 1907. N. 50. p. 1460—1462. 3 Fig.)

Miquel, P., Sur un mode de désinfection des livres. (L'hygiène gén. et appl. Année II. 1907. N. 11. p. 650—658.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

A recently introduced borer-beetle (Phoracantha recurva Newm.). (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXI. 1907. N. 2. p. 140—141. 2 Taf.)

Appel, Otto und **Kreitz, Wilhelm**, Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Kartoffelkrankheiten und ihrer Bekämpfung. Berlin (Parey) 1907. 29 S. 8⁰. 18 Fig. (= Mitteilungen aus d. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch. Heft 5.)

Auszug aus dem Referate über die Konstatierung und Verbreitung der Reblaus in Tirol im Jahre 1907. (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 45. p. 526—529.)

Bargmann, Die Gänge des Myelophilus (Hylesinus) piniperda Lin. im stehenden Holze. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. V. 1907. Heft 10. p. 500—502. 2 Fig.)

Berget, Adrien, Observations sur l'invasion du rot gris en 1907. (Rev. de viticult. Année XIV. 1907. N. 725. p. 509—511.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 20. Februar 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 18|20.

Original-Mitteilungen.

Zur Kenntnis der Veränderungen in der Bakterienflora der frischen Milch während des sogenannten Inkubationsstadiums.

Von **Arthur Wolff**, Kiel.

Einleitung.

Wenn auch die Bakterien der Kuhmilch schon zu wiederholten Malen Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen sind (es sei beispielsweise an die Arbeiten von Adametz, Backhaus, v. Freudenreich, Burri, Hüppe, Leichmann, Weigmann etc. erinnert), so handelte es sich dabei in der Regel entweder um Keimzahlbestimmungen oder um Feststellung der Arten in frischgemolkener Milch, wobei in vielen Fällen der Einfluß der Gewinnungsweise auf die Zusammensetzung der Bakterienflora im Vordergrund des Interesses stand. Untersuchungen, welche im besonderen den Zweck verfolgten, die Veränderungen und Verschiebungen festzustellen, welche innerhalb der Bakterienflora der Milch zwischen dem Zeitpunkt der Gewinnung und der beginnenden Säuerung eintreten, liegen bis jetzt nur wenige vor. Es wären in dieser Beziehung die Arbeiten von Conn und Esten (1 und 2) zu nennen, auf welche an geeigneter Stelle näher einzutreten sein wird. Beiträge in derselben Richtung sind auch in den Arbeiten von O. Hunziker (1) und Koning (1) enthalten.

Untersuchungen dieser Art beanspruchen in mehrfacher Hinsicht ein nicht geringes Interesse. Dieses ist zunächst rein wissenschaftlicher Art und dreht sich um die Frage, in welcher Weise das aus sehr verschiedenartigen Elementen zusammengesetzte Keimgemisch der frischgemolkenen Milch durch die in letzterer gebotenen Entwickelungsbedingungen beeinflußt wird. Sodann spielen hier eine Rolle und berühren sich Interessen molkereitechnischer und hygienischer Natur. Die zur Unschädlichmachung krankheitserregender Keime in umfangreichem Maße angewendeten Verfahren, speziell die Pasteurisierung und die Sterilisierung, sind bezüglich des Zeitpunktes der Anwendung mehr oder weniger abhängig von den Produktions- und Transportverhältnissen des Rohmaterials. Nicht immer liegen die Verhältnisse so, daß die Behandlung der Milch durch Hitze sofort nach dem Melken ausgeführt werden kann; im Gegenteil, meistens verstreicht eine gewisse Zeit, bis das für eine rationelle Behandlung notwendige größere Quantum an irgend einer Sammelstelle vereinigt ist. Es fragt sich nun, ob die inzwischen vor sich gegangenen Veränderungen der Bakterienflora geeignet sind, die Wirkung jener Maßnahmen, z. B. der Pasteurisierung, abzuschwächen. Auf Grund theoretischer Erörterungen ist die Frage nicht ohne weiteres zu bejahen. Wir wissen allerdings, daß bald nach dem Melken die Bakterienzahl beträchtlich steigt und zu einer enormen Höhe anwachsen kann, bevor eine chemische Veränderung der Milch wahrzunehmen ist. Anderseits scheint aber kein Grund gegen die Annahme vorzuliegen, daß eine bestimmte Erhitzung der Milch, z. B. eine solche auf 70° C

während einer halben Stunde, die gewünschte Wirkung hat, gleichgültig ob die Keimzahl sich auf einige Hundert oder auf Millionen beläuft, vorausgesetzt, daß in beiden Fällen dieselben Arten vorhanden sind. Und doch haben praktische Erfahrung und Versuche, wohl zuerst diejenigen von Russell und Hastings (2), gezeigt, daß eine Pasteurisierung bezüglich der Haltbarkelt der Milch um so wirksamer ist, um so kürzer die Zeit, welche zwischen Gewinnung und Wärmebehandlung verstreicht. Die Ursachen dieses Verhaltens sind bis heute noch nicht hinreichend klargelegt. Vom hygienischen Standpunkte aus ließe sich zu Gunsten einer möglichst frühzeitigen Erhitzung der Milch unter anderem geltend machen, daß schon bald nach dem Melken durch gewisse Milchbakterien giftige Stoffwechselprodukte gebildet werden können, welche durch das nachträgliche Erhitzen nicht unschädlich gemacht werden. In der Tat sind seinerzeit von Flügge (1) Belege dafür erbracht worden, daß es unter den sogenannten peptonisierenden (sporenbildenden) Milchbakterien Arten gibt, welche durch Bildung giftiger Stoffe ausgezeichnet sind. Ob solche Bakterien und sporenbildende Bakterien überhaupt in der zwischen der Gewinnung und Säuerung liegenden Zeit, der sogenannten Inkubationsperiode, in der Milch zur Vermehrung gelangen, dafür liegen bis jetzt keine Beweise vor.

Eine genaue Untersuchung der sich während der Inkubationsperiode in der Milch abspielenden Veränderungen der Bakterienflora erscheint geeignet, auf obige und verwandte Fragen einiges Licht zu werfen, und aus diesem Grunde veranlaßte mich Herr Prof. Dr. R. Burri, die vorliegende Arbeit auszuführen.

A. Untersuchungsmethoden.

Leitender Grundsatz war, so vorzugehen, daß ein möglichst getreues Bild von allen in der Flora vor sich gehenden Verschiebungen gewonnen werden konnte. Selbstverständlich war es nicht möglich, eine Probe nach allen in Betracht fallenden Richtungen gleichzeitig zu untersuchen; die zu verarbeitenden Kulturen hätten nicht bewältigt werden können. Es wurden daher in einer Reihe von Versuchen successive bestimmte Bakteriengruppen besonders ins Auge gefaßt. Aus dem oben angeführten Grunde konnte das Verhalten einer Probe nicht stündlich, sondern nur in größeren Zeitintervallen verfolgt werden.

Zum Nachweis der einzelnen Bakteriengruppen dienten folgende Kulturverfahren:

1) Molkengelatine- und Agarplatten für die bei Luftzutritt wachsenden Arten;

2) ebensolche für pasteurisiertes Material zum Nachweis aërober Sporenbildner;

3) Hoheschichtkulturen von Milchzuckeragar für fakultativ und obligat anaërobe Organismen;

4) Anreichungskulturen verschiedener Art für Nachweis vereinzelter aërober und anërober Sporenbildner.

5) Oberflächenplatten nach R. Burri (3), zwecks leichterer Differenzierung der bei Luftzutritt wachsenden Bakterien.

Die zuletzt angeführte Methode fand bei unseren Untersuchungen die ausgedehnteste Anwendung und bedarf noch einer kurzen Erörterung. Während bei dem gewöhnlichen Plattenkulturverfahren sich der Uebelstand unangenehm bemerkbar machte, daß jeweils Tiefenkolonieen

auftraten, die die Uebersicht der Bakterienflora auf der betreffenden Platte sehr erschwerten, ist bei Anwendung der ebengenannten Methode die Differenzierung der einzelnen, auf einer Platte entstehenden Kolonieentypen außerordentlich erleichtert. Das im Wasser suspendierte Impfmaterial wird dabei durch einen Verstäubungsapparat in einem äußerst feinen Sprühregen auf die abgedeckte, erstarrte Gelatine- oder Agarplatte gebracht und so ausschließliches Wachstum in Oberflächenkolonieen erzielt. Selbstverständlich kann auf diese Weise kein Aufschluß über die absolute in der Gewichts- oder Volumeneinheit enthaltene Keimzahl erlangt werden, wohl aber liefert das Verfahren zuverlässige quantitative Verhältniszahlen.

Durch Vorversuche wurden die zweckmäßigsten Verdünnungen für die Aussaat festgestellt. Unverdünnte Milch zu verwenden, ist nicht angängig, da in jedem Tröpfchen des Sprühregens nicht mehr als ein Keim enthalten sein sollte. Auch mit dem doppelten Quantum Wasser vermengte Milch erwies sich als zu konzentriert, es wurde daher im Verhältnis 1:10 und 1:100 verdünnte Milch für die erste und die zweite Aussaatzeit der gleichen Milchprobe verwendet; für die folgenden Zeitpunkte kamen natürlich kleinere, je nach der Wahl der Aufbewahrungstemperatur gewählte Impfmengen zur Anwendung. An jedem Untersuchungszeitpunkte einer Milchprobe wurden je 2 Agar- und Gelatineplatten nach Gutdünken, die eine etwas längere, die andere etwas kürzere Zeit bestäubt.

Für die Analyse wurde jeweils die günstigere der beiden Platten, d. h. jene ausgewählt, auf der bei möglichst geringer Zahl doch alle Arten vertreten waren; die zweite diente zur Kontrolle; sie zeigte stets, wenn auch nicht in der Zahl, so doch in der Verteilung der Arten, die beste Uebereinstimmung. Die Untersuchung gestaltete sich am leichtesten, wenn 20—80 Kolonieen vorhanden waren; zuweilen ließ sich aber auch schon auf schwächer besetzten Platten erkennen, welche Bakterienarten im Vordergrunde standen, welche sich vermehrt hatten, welche zurückgetreten waren.

Andererseits war es möglich, auch stärker besäte Platten, sogar solche, die mehrere hundert Keime aufwiesen, noch verhältnismäßig leicht zu qualifizieren. Und hatte sich eine Bakterienart, wie dies bei Bact. Güntheri (Bact. lactis acidi) gegen Schluß des Versuches stets der Fall war, stark vermehrt, so waren dicht besetzte Kulturen direkt notwendig, um das Verhalten der anderen Bakterienspecies beobachten zu können. Alsdann wurde zunächst die Zahl der weitaus vorherrschenden punktförmigen Kolonieen, es waren dies mit sehr seltenen Ausnahmen Bact. Güntheri und Streptokokken, festgestellt. Die anderen Arten zeichneten sich durch die Größe ihrer Kolonieen vor jenen und durch verschiedene andere Merkmale untereinander aus, an Hand derer sie gruppiert werden konnen; auf Gelatineplatten kam als Unterscheidungsmoment noch das Verflüssigungsvermögen verschiedener Arten hinzu. Um ein Beispiel herauszugreifen, so zeigte eine Gelatineplatte 630 Kolonieen; trotzdem war eine Beurteilung der Platte nicht so schwierig. Schon makroskopisch konnte man drei verschiedene Typen unterscheiden, erstens 2—3 mm große graue, zum zweiten verflüssigende und zuletzt punktförmige Kolonieen. Hielt man nun eine Zählplatte unter die Kultur, so kamen in schöner Verteilung auf jedes Quadrat ca. 10 Kolonieen, wovon drei dem ersten Typus angehörten; von den an zweiter Stelle genannten waren im Ganzen 59 vorhanden, bei 63 an der Zahl wäre, da die Fläche der Petri-

Schale 63 qcm aufweist, genau eine Kolonie auf ein Quadrat gefallen; die übrigen Kolonieen, d. h. also 6 pro Quadrat, waren punktförmig und bestanden aus Güntheri und Streptokokken. Solche und ähnliche Anhaltspunkte erleichterten die Analyse wesentlich. Schon beim Zählen der Kolonieen, was notwendigenfalls unter Zuhilfenahme von Lupe und Mikroskop geschah, konnte man sich ungefähr ein Bild von der Verteilung der Arten machen. Die einzelnen Kolonieen wurden alsdann mit Zahlen bezeichnet, unzweifelhaft als identisch erkenntliche mit der gleichen Zahl, und mikroskopisch untersucht. Wo morphologische Kennzeichen für die Bestimmung der Species nicht ausreichten, wurden Abstriche von der betreffenden Kolonie auf solche Nährböden gemacht, auf denen man charakteristisches Wachstum erwarten konnte. Aus den bei der Plattenuntersuchung gewonnenen absoluten Zahlen wurde, unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Befunde bei den Kulturen geringerer Verdünnung, die prozentische Zusammensetzung berechnet. Jene Arten, die in so geringer Anzahl vorhanden waren, daß sie auf der Verdünnung 1:100 nicht zum Ausdruck kamen, fanden im allgemeinen keine zahlenmäßige Berücksichtigung, doch zeigten sich solche Vertreter hin und wieder vereinzelt und konnte so wenigstens ihr Vorhandensein konstatiert werden. Gefärbte Ausstrichpräparate, die an den betreffenden Zeitpunkten der Beobachtungsdauer stets mit der gleichen Oese aus den in Untersuchung genommenen Milchproben angefertigt wurden, gaben bereits zuvor eine allgemeine Orientierung.

Es ist wohl überflüssig, noch besonders zu erwähnen, daß die Kulturen so lange unter Augen gehalten wurden, bis man sicher sein konnte, daß auch die langsam wachsenden und daher spät auftretenden Kolonieen zum Vorschein gekommen und wesentliche Veränderungen nicht mehr zu beobachten waren.

Wie üblich, wurden die Gelatineplatten bei 20—22°, die Agarplatten bei 30° C im Thermostaten aufbewahrt.

Nach den angegebenen Verfahren mußte es gelingen, die gesamte Bakterienflora der Milch zu diagnostizieren, deren Vertreter sich in folgende 6 Gruppen zwanglos zusammenfassen lassen:

1. Kokken,
2. Milchsäurebakterien (Typus Güntheri und Streptokokken),
3. Kurzstäbchen, nicht der Coli-Gruppe angehörend,
   a) alkalibildende, nicht verflüssigende,
   b) andere nicht verflüssigende,
   c) verflüssigende,
   d) gegen Pasteurisieren unempfindliche;
4. Coli-aërogenes-Gruppe.
5. Sporenbildner:
   a) aërobe,
   b) fakultativ anaërobe,
   c) obligat anaërobe,
6. zu keiner dieser Gruppen gehörende, mehr zufällige Milchbewohner.

Die Untersuchungsmilch stammte aus zwei Ställen, die ich mit I und II bezeichnen will.

Stall I war ein älteres Fachwerkgebäude mit Tiefstand für 6—7 Kühe; Stallfütterung das ganze Jahr hindurch (in den Sommermonaten Grünfütterung und nur morgens und abends etwas Heu, im Winter Rauh- und Kraftfutter). Das Gemelk der Kühe wurde im Stalle selbst durch

ein Sieb in ein cylinderförmiges Sammelgefäß aus Blech gegossen, das nach beendetem Melken mit einem Deckel verschlossen wurde.

Stall II war massiv gebaut, der Boden gefließt; im Sommer Weidegang. Das Gemelk der dort aufgestellten 23 Kühe (wie im ersten Stall teils Braun-, teils Fleckvieh) wurde im Freien über einen kleinen Schmidtschen Kühler geschickt und in Blechkannen, die das Ermolkene von 6—7 Kühen faßten, aufgefangen. Die Milch hatte alsdann eine Temperatur von 15—16° C. Die Kannen wurden bis zum Abschluß des Melkens in einem zementierten Wasserbassin (12—13° C) aufbewahrt. In beiden Ställen wurde während des Melkens nicht gefüttert, die gebrauchten Gefäße wurden mit kaltem Wasser und Bürste sorgfältig gereinigt.

Die Probeentnahme geschah persönlich oder in sonst zuverlässiger Weise auf die Art, daß die Milch, sofort nachdem das Sammelgefäß resp. eine der Kannen gefüllt war (also immer aus dem Gemelk von 6—7 Kühen), nach gründlichem Durchmischen mit einem an langem Stiel befestigten Litermaß entnommen wurde. Es entsprachen also die Milchproben, wie sie zur Untersuchung gelangten, einer guten, frischen Marktmilch.

In dünnwandigen sterilisierten Glaskolben, die 500 ccm faßten, und die mit einem sterilen Wattepfropf verschlossen waren, wurde die betreffende Probe bei verschiedenen Temperaturen, bei 5—7°, bei 20—22°, bei 30 und bei 37° C im Thermostaten bis zum starken Anwachsen der Milchsäurebakterien resp. bis zum deutlichen Sauerwerden aufbewahrt und in bestimmten Zeitintervallen, deren Länge sich nach dem Grad der gewählten Aufbewahrungstemperatur richtete, auf Kulturen verarbeitet. Bei Anwendung der höheren Aufbewahrungstemperaturen wurde die Milch vorgewärmt, um ein verschieden langes Anwärmen in den Thermostaten zu vermeiden. Die Kolben waren beinahe bis zum Halse gefüllt, so daß sie immerhin eine gute Durchmischung durch Umschütteln gestatteten, anderseits aber dem Luft- resp. dem Sauerstoffzutrttt nicht eine zu große Fläche boten, was das Wachstum aërober Bakterien einseitig hätte begünstigen können. Es entpricht diese Aufbewahrungsart auch den Verhältnissen in der Praxis, woselbst Milchquantitäten mehr oder weniger in Cylinderform, jedenfalls nicht in so flacher Schicht, wie sie ein halbgefüllter Rundkolben bietet, aufbewahrt werden. — Die Probe wurde entweder sofort oder 1—2 Stunden nach dem Melken verarbeitet, wobei sich untersuchungs- und erfahrungsgemäß kein Unterschied im bakteriologischen Befund herausstellte.

B. Die Versuchsergebnisse.

Zweckmäßigerweise erfolgt die Darstellung der Versuchsergebnisse nicht in chronologischer Reihenfolge, sondern das gesammelte Material wird nach verschiedenen Gesichtspunkten, die sich je nach Wahl in den Vordergrund stellen lassen, gegliedert.

1. Die Verschiebung in der Gesamtkeimzahl.

Der Schwerpunkt unserer Untersuchungen lag in der qualitativen Analyse der Bakterienflora; quantitative Bestimmungen kamen nur in beschränkter Zahl zur Ausführung. Von den 20 angestellten Versuchen waren nur die ersten 6, und zwar ausschließlich, quantitativer Art. Bei

den folgenden 5 (Versuche VII—XI) wurden für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl verwendbare Kulturen überhaupt nicht ausgeführt; in jedem weiteren Versuche (XII—XX) sind alsdann wenigstens quantitative Agarplatten als Stützpunkt für die unter Anwendung des Verstäubungsapparates ausgeführten qualitativen Untersuchungen angelegt worden.

Um eine Uebersicht über den Keimgehalt der untersuchten Milchproben und über das Verhalten der Keime innerhalb verschiedener Zeitintervalle zu geben, dürfte es angebracht sein, die Resultate der quantitativen Bestimmungen in Tabellenform vorauszuschicken; die Zahlenangaben beziehen sich auf den Keimgehalt der Milch pro Kubikcentimeter. Es wurde die Aussaat der Milch in 3, nicht selten in 4 verschiedenen Verdünnungen besorgt, deren Angabe in der Tabelle beigefügt ist. Auf Grund des Antagonismus und der Tatsache, daß nicht jede Kolonie ihren Ursprung einem einzigen Keim verdankt, traten bei den einzelnen Verdünnungen speziell auf den Platten beträchtliche Schwankungen in der Keimzahl zu Tage. In der Hohenschicht-Kultur waren solche Differenzen nicht zu verzeichnen, weshalb wir uns hier mit der Angabe einer Zahl begnügen wollen. Die Verdünnungen wurden stets in der Weise hergestellt, daß mit einer sterilen Pipette 1 ccm der gut durchmischten Milch direkt dem Kolben entnommen, in ein steriles 100 ccm-Kölbchen gebracht und bis zur geeichten Marke mit sterilisiertem Leitungswasser verdünnt wurde; weitere Uebertragungen von 1 ccm der Aufschwemmung in ein zweites und drittes 100 ccm-Kölbchen und Auffüllen lieferten die weiteren Verdünnungen. In den folgenden Tabellen bedeutet: Gel. = Molkengelatineplatten, Ag. = Platten von gewöhnlichem Agar, H. Sch. = Milchzuckeragar-Hoheschicht.

Tabelle I (p. 551) zeigt im großen und ganzen ein Gleichbleiben der Keimzahl in der Zeit von 8—11 Uhr. Hat eine Vermehrung stattgefunden, so ist sie, wie schon aus dem Befunde in Hoher-Schicht ersichtlich, Bact. Güntheri (Bact. lactis acidi) zuzuschreiben.

In Tabelle II (p. 552) sollte Versuch XII (vom 19. Juni), der mit Milch aus Stall I bei einer Aufbewahrungstemperatur von 5—7° C ausgeführt wurde, an erste Stelle treten, doch kamen hier exakte quantitative Bestimmungen nicht zur Ausführung, immerhin aber ließ sich bei Anwendung der Verstäubungsmethode in bestimmten Verdünnungen (1:10, 1:100 und 1:500 für die ersten 3 Tage, 1:1000 für die folgenden) deutlich genug erkennen, daß eine Vermehrung der Keime erst am 3. Tage eingesetzt hatte.

In dem entsprechenden Versuche XIII in Tabelle III (p. 552), bei welchem Milch aus Stall II bei 5° C aufbewahrt wurde, ist am 3. Tage ein deutliches Zurückgehen der Keimzahl zu beobachten. Desgleichen war auch in Versuch X, der hier, weil ins Kapitel über die Sporenbildner gehörig, nicht aufgeführt, am 1. Tage in der Zeit von 7 Uhr morgens bis 7 Uhr abends unverkennbar eine Abnahme der Keimzahl in zwei zu gleicher Zeit im Eisschrank aufbewahrten Milchproben derselben Herkunft auf den doppelt angelegten Agarplattenkulturen ersichtlich. Diesen Erscheinungen, wie auch dem anfangs zu beobachtenden Gleichbleiben der Keimzahl bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° C — bei Versuch II ist sogar eine Abnahme der Zahl zu konstatieren — dürfte eine bakterizide Wirkung der Milch zu Grunde liegen. Bei 20° war 7—8 Stunden nach dem Melken keinerlei Bakterizidie zu

Tabelle I. Milchproben aus Stall I. Aufbewahrungstemperatur 30° C.

Versuche	Kultur	8 Uhr	11 Uhr	2 Uhr	5 Uhr
I. Versuch vom 2. Dezember 1905	Gel.	1 : 100 = 36 000	1 : 100 = 38 000	1 : 100 = 120 000	1 : 1000 = 9 330 000
		1 : 1000 = 40 000	1 : 1000 = 41 000	1 : 1000 = 195 000	
	Ag.	1 : 100 = 39 000	1 : 100 = 56 000	1 : 100 = 100 000	1 : 1000 = 7 182 000
		1 : 1000 = 60 000	1 : 1000 = 85 000	1 : 1000 = 109 000	
	H. Sch.	45 000	50 000	100 000	5 600 000
II. Versuch vom 8. Dezember 1905	Gel.	1 : 100 = 375 000	1 : 100 = 213 200	1 : 1000 = zu dicht	
		1 : 1000 = 220 000	1 : 1000 = 250 000	1 : 10 000 = 5 800 000	
		1 : 10 000 = 310 000	1 : 10 000 = 330 000	1 : 100 000 = verunglückt	1 : 100 000 = 15 800 000
	Ag.	1 : 100 = 160 000	1 : 100 = 80 000	1 : 1000 = zu dicht	
		1 : 1000 = 268 000	1 : 1000 = 234 000	1 : 10 000 = 3 000 000	
		1 : 10 000 = 50 Kol.	1 : 10 000 = 210 000	1 : 100 000 = 3 600 000	1 : 100 000 = 12 200 000
	H. Sch.	24 000	47 000	210 000	7 500 000
III. Versuch vom 30. Januar 1906	Gel.	1 : 1000 = 250 000	1 : 1000 = 1 600 000	1 : 10 000 = 5 500 000	
		1 : 10 000 = 570 000	1 : 10 000 = 2 500 000	1 : 100 000 = 9 000 000	1 : 100 000 = 10 000 000
		1 : 100 000 = 400 000	1 : 100 000 = 5 Kol.	1 : 1 000 000 = 33 Kol.	1 : 1 000 000 = 88 000 000
	Ag.	1 : 1000 = 165 000	1 : 1000 = 1 400 000	1 : 10 000 = zu dicht	1 : 10 000 = zu dicht
		1 : 10 000 = 450 000	1 : 10 000 = 2 000 000	1 : 100 000 = 22 000 000	1 : 100 000 = 72 000 000
		1 : 100 000 = 300 000	1 : 100 000 = 2 400 000	1 : 1 000 000 = 38 000 000	1 : 1 000 000 = 90 000 000
	H. Sch.	75 000	600 000	4 400 000	16 000 000
IV. Versuch vom 9. Februar 1906	Gel.	1 : 1000 = 167 000	1 : 1000 = 177 000	1 : 10 000 = 1 600 000	1 : 100 000 = 20 000 000
		1 : 10 000 = 290 000	1 : 10 000 = 230 000	1 : 100 000 = 1 800 000	1 : 1 000 000 = 16 000 000
	Ag.	1 : 1000 = 148 000	1 : 1000 = 149 000	1 : 10 000 = 1 500 000	1 : 100 000 = 16 000 000
		1 : 10 000 = 180 000	1 : 10 000 = 190 000	1 : 100 000 = 1 400 000	1 : 1 000 000 = 19 000 000
	H. Sch.	39 000	32 000	280 000	3 000 000
V. Versuch vom 16. Februar 1906	Gel.	1 : 1000 = 198 000	1 : 1000 = 205 000	1 : 10 000 = 2 600 000	1 : 100 000 = 12 000 000
		1 : 10 000 = 280 000	1 : 10 000 = 220 000	1 : 100 000 = 3 500 000	1 : 1 000 000 = 25 000 000
	Ag.	1 : 1000 = 125 000	1 : 1000 = 150 000	1 : 10 000 = 2 030 000	1 : 100 000 = 25 000 000
		1 : 10 000 = 190 000	1 : 10 000 = 210 000	1 : 100 000 = 2 900 000	1 : 1 000 000 = 29 000 000
	H. Sch.	20 000	30 000	430 000	10 500 000
VI. Versuch vom 7. März 1906	Gel.	1 : 1000 = 397 000	1 : 1000 = 400 000	1 : 100 000 = 3 600 000	1 : 100 000 = 13 000 000
		1 : 100 000 = 450 000	1 : 10 000 = 670 000	1 : 1 000 000 = 4 100 000	1 : 1 000 000 = 16 000 000
	Ag.	1 : 100 = 189 000	1 : 100 = 160 000	1 : 1000 = 1 638 000	
		1 : 1000 = 210 000	1 : 1000 = 170 000	1 : 10 000 = 1 950 000	1 : 10 000 = ca. 9 000 000
	H. Sch.	75 000	340 000	1 200 000	7 200 0000

Tabelle II. Milchproben aus Stall I. Verschiedene Aufbewahrungstemperaturen.

Versuch	T.	Kultur	7 Uhr morgens	1 Uhr mittags	7 Uhr abends	2. Tag 7 Uhr morgens	11½ Uhr
XVIII v. 13. 10.	20—22°	Ag.	1 : 1000 = 122 000	1 : 1000 = 315 000	1 : 100 000 = 5 700 000	1 : 1 000 000 = 567 000 000	1 : 1 000 000 = 1 260 000 000
			1 : 10 000 = 140 000	1 : 10 000 = 550 000	1 : 1 000 000 = 18 000 000	1 : 10 000 000 = 610 000 000	1 : 10 000 000 = 1 160 000 000
		H. Sch.	1 : 1000 = 41 000	1 : 1000 = 130 000	1 : 100 000 = 1 900 000	1 : 10 000 000 = 580 000 000	1 : 10 000 000 = 1 330 000 000
			6½ Uhr morgens	10½ Uhr morgens	2½ Uhr	6½ Uhr	
XIX v. 19. 10.	30°	Ag.	1 : 1000 = 42 000	1 : 1000 = 252 000	1 : 100 000 = 4 800 000	1 : 1 000 000 = 188 000 000	
			1 : 10 000 = 40 000	1 : 10 000 = 310 000	1 : 1 000 000 = 7 000 000	1 : 10 000 000 = 180 000 000	
		H. Sch.	1 : 1000 = 23 000	1 : 1000 = 200 000	1 : 100 000 = 10 200 000	1 : 10 000 000 = 200 000 000	
			7 Uhr morgens	10½ Uhr morgens	2½ Uhr	6½ Uhr	
XX v. 26. 10.	37°	Ag.	1 : 1000 = 78 000	1 : 1000 = 84 000	1 : 100 000 = 1 500 000	1 : 1 000 000 = 58 000 000	
			1 : 10 000 = 70 000	1 : 10 000 = 90 000	1 : 1 000 000 = 3 000 000	1 : 10 000 000 = 40 000 000	
		H. Sch.	1 : 1000 = 16 000	1 : 1000 = 76 000	1 : 100 000 = 2 700 000	1 : 10 000 000 = 75 000 000	

Tabelle III. Milchproben aus Stall II. Verschiedene Aufbewahrungstemperaturen.

Versuch	T.	Kultur	1. Tag 8 Uhr morg.	2. Tag 8 Uhr morg.	3. Tag 8 Uhr morg.	5. Tag 8 Uhr morg.	7. Tag 8 Uhr morg.
XIII v. 28. 7.	5—7°	Ag.	1 : 1000 = 6 000	1 : 1000 = 6 000	1 : 1000 = 4 000	1 : 1000 = 28 000	1 : 1000 = 41 000
			1 : 10 000 = 0	1 : 10 000 = 0	1 : 10 000 = 0	1 : 10 000 = 20 000	1 : 10000 = 20000
		H. Sch.	nur mit Oese angelegt				
			1. Tag 8 Uhr morg.	2 Uhr	8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	
XIV v. 15. 9.	20°	Ag.	1 : 1000 = 610 000	1 : 1000 = zu dicht	1 : 10 000 = zu dicht	1 : 100 000 = 200 000 000	
			1 : 10 000 = 800 000	1 : 10 000 = 5 040 000	1 : 100 000 = 18 000 000	1 : 1 000 000 = 378 000 000	
		H. Sch.	1 : 1000 = 320 000	1 : 1000 = 1 300 000	zu stark besetzt		
			8 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr
XV v. 20. 9.	20°	Ag.	1 : 1000 = 270 000	1 : 1000 = 1 020 000	1 : 10 000 = 22 050 000	1 : 100 000 = 189 000 000	1 : 1000000 = 610000000
			1 : 10 000 = 360 000	1 : 10 000 = 3 280 000	1 : 100 000 = 27 300 000	1 : 1 000 000 = 252 000 000	1 : 10000000 = 980000000
		H. Sch.	1 : 10 000 = 250 000	1 : 10 000 = 760 000	1 : 100 000 = 10 300 000	1 : 1 000 000 = 125 000 000	1 : 10000000 = 395000000
			7 Uhr morgens	11½ Uhr	3½ Uhr	7 Uhr abends	
XVI v. 27. 9.	30°	Ag.	1 : 1000 = 819 000		1 : 100 000 = 182 000 000	1 : 1 000 000 = 380 000 000	
			1 : 10 000 = 980 000	1 : 10 000 = 28 970 000	1 : 1 000 000 = 205 000 000	1 : 10 000 000 = 340 000 000	
		H. Sch.	1 : 10 000 = 1 040 000	1 : 10 000 = 25 680 000	1 : 1 000 000 = 275 000 000	1 : 10 000 000 = 360 000 000	
			6½ Uhr	10½ Uhr	2½ Uhr	6 Uhr abends	
XVII v. 6. 10.	37°	Ag.	1 : 1000 = 204 000	1 : 1000 = 2 275 000	1 : 100 000 = 16 000 000	1 : 1 000 000 = 149 000 000	
			1 : 10 000 = 370 000	1 : 10 000 = 2 800 000	1 : 1 000 000 = 28 000 000	1 : 10 000 000 = 200 000 600	
		H. Sch.	1 : 1000 = 50 000	1 : 10 000 = 1 440 000	1 : 1 000 000 = 31 000 000	1 : 10 000 000 = 132 000 000	

bemerken, desgleichen auch nicht bei 37° nach 3—4 Stunden; doch könnte immerhin, wenigstens bei der Aufbewahrungstemperatur von 20°, bereits vor dieser Zeit ein Zugrundegehen gewisser Bakterienarten, eventuell solcher, die nur sehr spärlich in der Milch vertreten waren und auf den angelegten Kulturen nicht beobachtet werden konnten, eingetreten sein. Auf Bact. Güntheri scheint aber, wie die Befunde in Hoher-Schicht schließen lassen, keine bakterizide Wirkung ausgeübt worden zu sein.

Vielleicht ist die Abnahme der Keimzahl in bakterienreicher Milch darauf zurückzuführen, daß, einer neueren Behauptung zufolge, Milch ein zu konzentriertes Nährmedium für viele Bakterien ist, daß zudem Keime, die den gebotenen Verhältnissen durchaus nicht angepaßt sind, hineingelangen und so unter Mitwirkung eines gewissen Antagonismus, bei dem wieder das Temperaturoptimum der Arten eine bedeutende Rolle spielt, zu Grunde gehen.

Wollte man die vielumstrittene Frage der Bakterizidie studieren, so müßte natürlich in anderer Weise vorgegangen werden, es liegt jedoch nicht in dem Rahmen meiner Arbeit, hierauf experimentell näher einzugehen; wir wollen uns jetzt vielmehr zur Betrachtung der einzelnen Bakteriengruppen wenden.

2. Die Kokken.

In allen Milchproben nahmen bei der einleitenden Untersuchung die Kokken das Hauptinteresse in Anspruch. Ihre ausgesprochene Neigung zur Pigmentbildung und das Verflüssigungsvermögen vieler Arten auf Gelatine lenkte ohnehin die Aufmerksamkeit auf sie. Ihr Verhalten in den betreffenden Milchproben, d. h. die relative Zu- resp. Abnahme ihrer Zahl bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen ist, in Prozentzahlen ausgedrückt, aus den drei nachstehenden Tabellen (p. 554, 555, 556) ersichtlich. Neben den Prozentzahlen sind in diesen wie in allen folgenden Tabellen auch die absoluten Zahlen des Gesamtkeimgehaltes angeführt, aus welchen sich ohne weiteres die absolute Zahl der betreffenden Bakteriengruppe ableiten läßt. Beim Gesamtkeimgehalt ist nicht etwa das Mittel aus den auf den drei verschiedenen Verdünnungen gefundenen Zahlen gezogen worden, sondern es wurde jene Zahl gewählt, die das größte Anrecht auf Gültigkeit besaß. Die Prozentzahlen beziehen sich auf den Befund auf den Oberflächenplatten. War eine bestimmte Bakterienart sehr stark vertreten, so kamen infolgedessen, selbst auf noch günstig besetzten Kulturen, andere Arten zuweilen nicht mehr zum Ausdruck; in solchen Fällen ist in den Tabellen die Bemerkung > 1 Proz. zu finden. In Versuch XII wurden quantitative Bestimmungen nicht gemacht.

Eine nähere Betrachtung der Tabellen zeigt, wie in jedem Versuche die Kokken prozentualiter allmählich in den Hintergrund treten; damit ist aber eine Abnahme ihrer absoluten Zahl nicht notwendig verbunden, im Gegenteil, die letztere nimmt sogar meistens zu. Weiteres in dieser Beziehung wird besser später bei Betrachtung aller Bakteriengruppen nebeneinander im Zusammenhang erörtert werden. Hier sollen vorerst einige Mitteilungen in Betreff der bei den einzelnen Versuchen aufgetretenen Kokkenarten folgen.

I. Milchproben aus Stall I, bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° C.

Versuch	Kultur	8 Uhr	11 Uhr	2 Uhr	5 Uhr
I.	Gel.	60 (40 000)	50 (41 000)	25 (195 000)	5 (9 330 000)
	Ag.	40 (60 000)	50 (85 000)	25 (109 000)	5 (7 182 000)
	H. Sch.	20 (45 000)	10 (50 000)	0 (100 000)	0 (5 600 000)
II.	Gel.	60 (220 000)	30 (250 000)	5 (5 800 000)	3 (15 800 000)
	Ag.	75 (268 000)	55 (234 000)	10 (3 000 000)	3 (12 200 000)
	H. Sch.	20 (24 000)	10 (47 000)	0 (210 000)	0 (7 500 000)
III.	Gel.	20 (570 000)	10 (1 600 000)	15 (9 000 000)	2 (88 000 000)
	Ag.	25 (450 000)	10 (2 000 000)	10 (22 000 000)	1 (72 000 000)
	H. Sch.	vereinzelt	vereinzelt	0	0
IV.	Gel.	33 (167 000)	40 (177 000)	15 (1 600 000)	1,5 (20 000 000)
	Ag.	50 (148 000)	50 (149 000)	12 (1 500 000)	1 (16 000 000)
	H. Sch.	25 (39 000)	20 (32 000)	3 (280 000)	0 (3 000 000)
V.	Gel.	52 (198 000)	55 (205 000)	10 (2 600 000)	8 (12 000 000)
	Ag.	60 (125 000)	55 (150 000)	20 (2 030 000)	15 (20 000 000)
	H. Sch.	51 (20 000)	45 (30 000)	4 (430 000)	0 (10 500 000)
VI.	Gel.	35 (397 000)	35 (400 000)	4 (3 600 000)	1,5 (13 000 000)
	H. Sch.	5 (75 000)	5 (340 000)	0 (1 200 000)	0 (7 200 000)

I. Milchproben aus Stall I.

1. Bei 30° C aufbewahrt:

Versuch I. 8 Uhr: 10 Proz. gelbe, 30 Proz. weiße, um 11 Uhr: 25 Proz. gelbe, 40 Proz. weiße Kokkenkolonieen, um 2 und 5 Uhr traten farbstoffbildende nicht mehr auf. In ähnlicher Weise verhielten sich die Pigmentbildner auch in den folgenden in gleicher Weise ausgeführten Versuchen; zum Schlusse traten sie entweder gar nicht mehr oder nur vereinzelt auf.

Versuch II. 8 Uhr: Gel., Verd. 1:100; 7 verflüssigende, weiße Kokkenkolonieen, dem nachstehend beschriebenen Coccus No. 48 ähnlich; ich bezeichne sie mit No. 58. Ag., Verd. 1:100; 40 Proz. C. No. 58, 30 Proz. Sarcinen, 10 Proz. goldgelbe, 10 Proz. zitronengelbe, 10 Proz. große, weiße Kokkenkolonieen anderer Art. 11 Uhr: eine leichte Zunahme der verflüssigenden, während sich die anderen nicht vermehrt, sondern sogar, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, eine Abnahme erfahren hatten, indem bei nur wenig gestiegener Gesamtkeimzahl die Prozentzahl der Kokken kleiner ist. Um 2 Uhr war eine weitere Zunahme der verflüssigenden Kokken (1:1000 = 14 Kolonieen) zu verzeichnen, obgleich die Gesamtzahl der Kokken bedeutend gesunken ist. Um 5 Uhr hatten sich die verflüssigenden Kokken (C. No. 58) weiter vermehrt, Verdünnung 1:10000 zeigte 18, 1:100000 sogar 5 derartige Kolonieen.

Versuch III. 8 Uhr: Verd. 1:10000; 1 C. No. 27, 1 C. No. 58 und einige andere; 1:100000; nur ein weißer, nicht verflüssigender Coccus. 11 Uhr: Im allgemeinen eine gleiche Verteilung der Arten. Es vermehrten sich in erster Linie die verflüssigenden Kokken, speziell Coccus No. 58; er war in Verd. 1:10000 um 2 Uhr durch 3, um 5 Uhr durch 7 Kolonieen vertreten.

Versuch IV. 8 Uhr: Verd. 1:10000; 3 verflüssigende, 2 gelbe und 4 weiße (nicht verflüssigende) Kokken. 11 Uhr: Die leichte Zunahme ist auf Rechnung der verflüssigenden zu schreiben, die Zahl der anderen hatte sich bestimmt nicht vermehrt, eher abgenommen. 2 Uhr: Verd. 1:100000; 4 verflüssigende und ein weißer, nicht verflüssigender Coccus. 5 Uhr: Verd. 1:100000; 2 verflüssigende und ein anderer Coccus.

Versuch V. 8 Uhr: Von den in der Tabelle für Gel. angegebenen 52 Proz. waren 30 Proz. verflüssigend, 20 Proz. farbstoffbildend. 11 Uhr: Das Bild hatte sich nicht verändert, nur in der hohen Schicht war die Zahl von 51 Proz. auf 45 Proz. gesunken, nicht aber die absolute Zahl, da eine Vermehrung der Gesamtkeime stattgefunden hatte. 2 Uhr: Gel. 1:100000: keine, Ag. 1:100000: 7 verflüssigende Kokken-

II. Milchproben aus Stall I, bei verschiedenen Temperaturen.

Versuch	Temperatur	Kultur	1. Tag 8 Uhr morgens Proz.	1. Tag 8 Uhr abends Proz.	2. Tag 8 Uhr morgens Proz.	2. Tag 8 Uhr abends Proz.	3. Tag 8 Uhr morgens Proz.	3. Tag 8 Uhr abends Proz.
XII.	5—7°	Gel. Ag. H. Sch.	60 70 47	60 75 47	44 80 48	47 85 50	47 79 43	30 69 30
			4. Tag 8 Uhr morgens Proz.	5. Tag 8 Uhr morgens Proz.	7. Tag 8 Uhr morgens Proz.	9. Tag 8 Uhr morgens Proz.	11. Tag 8 Uhr morgens Proz.	14. Tag 8 Uhr morgens Proz.
		Gel. Ag. H. Sch.	22 44 30	32 21 25	26 16 25	40 40 20	10 15 1	verfl. 4 >1

Versuch	Temperatur	Kultur	1. Tag 7 Uhr morgens	1 Uhr mittags	7 Uhr abends	2. Tag 7 Uhr morgens	11½ Uhr morgens	
XVIII.	20—22°	Gel. Ag. H. Sch.	30 } (122 000) 30 } 8 (41 000)	>1 } (315 000) >1 } 10 (130 000)	>1 } (5 700 000) 4 } >1 (1 200 000)	>1 } (567 000 000) 1 } >1 (580 000 000)	>1 } (1 260 000 000) >1 } >1 (1 330 000 000)	= 0 von 80 Kol. = 0 „ 85 „ = 0 „ 133 „
			6½ Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6½ Uhr abends		
XIX.	30°	Gel. Ag. H. Sch.	20 } (42 000) 15 } 20 (23 000)	6 } (252 000) 6 } 2 (200 000)	4 } (480 000) 6 } 0,5 (10 200 000)	>1 } (188 000 000) >1 } >1 (200 000 000)	= 0 von 57 Kolon. = 0 „ 53 „ = 0 „ 187 „	
			7 Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6½ Uhr abends		
XX.	37°	Gel. Ag. H. Sch.	 48 (78 000) 25 (16 000)	zu schwach 35 (84 000) 9 (76 000)	besetzt, daher die 32 (1 500 000) 4·(2 700 000)	quant. Agarplatte 12 (58 000 000) 3,7 (45 000 000)	mikroskop.	

III. Milchproben aus Stall II, bei verschiedenen Temperaturen.

Vers.	T.	N. B.	1. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 8 Uhr morgens	3. Tag 8 Uhr morgens.	5. Tag 8 Uhr morgens	7. Tag 8 Uhr morgens
XIII	5—7°	Gel.	15 (6000)	12 } (6000)	17 } (4000)	anschein. verm.	verfl.
		Ag.	10	20 }	25 }	50 (28 000)	45 (41 000)
		H. Sch.	weg. ungünst. Verd. Zahlenangab. nicht mögl.			ca. 50	ca. 40
			1. Tag 8 Uhr morgens	2 Uhr	8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	
XIV	20°	Gel.	18 } (800 000)	5 } (5 040 000)	4 } (18 000 000)	>1 } (378 000 000)	= 2 v. 1550 Kol.
		Ag.	24 }	4 }	6 }	2 }	
		H. Sch.	1 (320 000)	1 (1 300 000)	in Kondenswasser noch nachweisbar		
			1. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 1 Uhr
XV	20°	Gel.	30 } (270 000)	36 } (1 020 000)	24 } (22 050 000)	30 } (189 000 000)	5 } (610 000 000)
		Ag.	35 }	43 }	21 }	30 }	4 }
		H. Sch.	70 (250 000)	63 (760 000)	45 (10 300 000)	15 (135 000 000)	>1 (395 000 000) = 0 von 395 Kol.
			7 Uhr morgens	$11\frac{1}{2}$ Uhr	$3\frac{1}{2}$ Uhr	7 Uhr abends	
XVI	30°	Gel.	5,7 } (980 000)	3,3 } (28 970 000)	8,5 } (205 000 000)	>1 } (380 000 000)	= 0 von 114 Kol.
		Ag.	13,5 }	0,9 }	7 }	>1 }	= 0 „ 148 „
		H. Sch.	Zahlenangabe nicht möglich				
			$6\frac{1}{2}$ Uhr morgens	$10\frac{1}{2}$ Uhr	$2\frac{1}{2}$ Uhr	6 Uhr abends	
XVII	37°	Gel.	35 } (204 000)	57 } (2 275 000)	59 } (28 000 000)	8 (200 000 000)	
		Ag.	33 }	46,3 }	65 }	8	
		H. Sch.	40 (50 000)	30 (1 440 000)	40 (31 000 000)	20 (132 000 000)	

kolonieen, wie Abstiche auf Gelatine zeigten; um 5 Uhr sogar in 1:1000000 noch 2 derselben.

Versuch VI. 8 Uhr: Verd. 1:10000: 12 verflüssigende Kokkenkolonieen, davon 5 von gelber Farbe; nicht verflüssigende konnten in den zur Untersuchung gelangten Kulturen nicht nachgewiesen werden. Um 11 Uhr war die Zahl jener auf 5 in Verd. 1:100000 gestiegen, weiterhin vermehrten sie sich diesmal nicht.

2. Aufbewahrungstemperatur von 5—7° C.

Versuch XII. Am 1. Tage verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken zu gleichen Teilen vorhanden, am 2. Tage kamen bereits 3 verflüssigende auf eine nicht verflüssigende Kokkenkolonie (auch hier war wieder der Coccus No. 58 vertreten). Weiterhin vermehrten sich die Kokken insgesamt langsam, während mit Zunahme der Gesamtkeimzahl ihre Prozentzahl eine allmähliche Verringerung erfuhr, weil andere Bakterienarten, wie wir später sehen werden, in den Vordergrund traten. Am 14. Tage wurden auf einer der beiden Agarplatten (die Gelatineplatten waren durch Bact. fluorescens verflüssigt) unter 41 Kolonieen kein Coccus mehr gefunden. Farbstoffbildende waren bis zum 4. Tage vertreten.

3. Bei Temperaturen von 20, 30 und 37° in den Versuchen XVIII, XIX und XX waren der Hauptsache nach die bereits erwähnten Typen zu finden.

II. Milchproben aus Stall II.

Sie zeigten zum Teil verwandte Arten; eine Species war auf den ersten Blick als identisch mit dem zuvor erwähnten Coccus No. 27 zu erkennen.

Versuch XIII, 5—7°: Es trat in diesem wie auch in den folgenden Versuchen der später eingehend beschriebene Coccus No. 48 häufig auf, ferner einige andere nicht farbstoffbildende, verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, die sich mit fortschreitender Zeit insgesamt in der Weise, wie es die Tabelle angibt, vermehrten.

Versuch XIV, 20°: 8 Uhr; Gel. (57 Kolonieen): davon 2 K. No. 27, 7 K No. 48, eine punktförmige Kolonie. Ag. (ebenfalls 57 Kolonieen): 2 K. No. 27, 2 K. No. 48, 3 K. von ganz unregelmäßiger Gestalt, flach, 3 mm, später 4 mm groß, 2 Kolonieen glänzende hohe Tröpfchen, 1 Kolonie punktförmig, 1 Sarcina. Weiterhin

konnte konstatiert werden, daß Coccus No. 48 an Zahl zunahm; die anderen Arten ließen sich bei der großen Zahl der Keime (Güntheri) nicht verfolgen.

Versuch XV 20°: 8 Uhr; Gel. (37 Kol.): 1 C. No. 27, 6 C. No. 48, 3 Kokken, von denen 2 No. 48 ähnlich waren, aber immerhin gewisse Abweichungen zeigten. Auf den Agarplatten differenzierten sich die Kolonieen nicht so deutlich, doch wurde konstatiert, daß die auf Gelatine beobachteten Arten auch hier vertreten waren. 1 Uhr, Gel. (75 Kolonieen): 23 K. No. 48, 1 Kolonie des oben erwähnten, dem C. No. 48 nahestehenden Coccus, 3 K. No. 27, der sich ebenfalls zu vermehren scheint. Ag. (73 Kolonieen): 24 K. No. 48, 3 K. No. 27, eine an Micrococcus candicans erinnernd, 3 Kolonieen weißlich, flach von ganz unregelmäßiger Form, am Rande wulstig, Zellen im Mittel 1,5 μ groß, Paketform häufig, eine Kolonie 1 mm groß, gelb, Zellen 1 μ groß. 7 Uhr abends, Gel. (63 Kolonieen): 15 K. No. 48. Ag. (107 Kolonieen): 22 Kokkenkolonieen und zwar meistens C. No. 48, kein Farbstoffbildner; am 2. Tage 8 Uhr morgens und 1 Uhr mittags trat ausschließlich nur C. No. 48 auf.

Versuch XVI, 30°: 7 Uhr morgens: Gel. (123 Kolonieen): 3 C. No. 48, 1 C. No. 27, 1 Kolonie 1—2, später bis 3 mm groß; weiß, von fester Konsistenz, Coccus 1,2 μ groß, Diplokokken, Tetraden und Haufen, selten einzeln und in Kettchen; 2 Kolonieen gelb, 1 mm groß, von hoher Tropfenform, Coccus 0,9 μ groß. Ag. (88 Kolonieen): 9 K. No. 48, 1 Sarcina. 11½ Uhr morgens (1890 Kolonieen): es war nur noch C. No. 48 zu entdecken. 3 Uhr: Gel. (162 Kolonieen): 14 K. No. 48. Ag. (160 Kolonieen): 9 K. No. 48, 2 Kolonieen 1 mm groß, weiß, nicht verflüssigend. 7 Uhr abends: Gel. (114 Kolonieen): kein Coccus mehr zu finden. Ag. (148 Kolonieen) desgleichen (auf der Kontrollplatte konnten allerdings von 143 Kolonieen noch 2 Kokken konstatiert werden).

Versuch XVII, 37°: 6½ Uhr morgens: Gel. (26 Kolonieen): 1 C. No. 48, 1 C. No. 27, 2 verflüssigend, die große Schale homogen weißlich getrübt, Kokken 1 μ groß, 1 Kolonie bis 1 cm groß, eine gelblich-weiße Wolke in flacher, unregelmäßiger Verflüssigungsschale, Zellen 1 μ groß, stark zitternd, 4 Kolonieen punktförmig, definitive Größe 1 mm, weiß, nicht verflüssigend, nach 5 Tagen noch 3 punktförmige ähnlicher Art. Ag. (28 Kolonieen): 9 Kokkenkolonien in fast gleicher Verteilung, dazu eine gelbe Sarcina und auf der Kontrollplatte ein gelber Coccus. 10½ Uhr: Gel. (101 Kolonieen): 7 K. No. 48, 4 entsprechend der um 6½ Uhr an dritter und 2 entsprechend der an vierter Stelle genannten Art. 2 Kolonieen bis 2 mm groß, rein weiß, nicht verflüssigend, die einzeln auftretenden Zellen 1 μ groß, eine punktförmige Sarcina. Ag. (84 Kolonieen): 39 Kokkenkolonieen in sehr ähnlicher Verteilung; auch hier trat außerdem, vielleicht infolge der höheren Aufbewahrungstemperatur der Agarplatten, gegenüber jener der Gelatineplatten, eine gelbe Sarcina und ein gelber Coccus auf. — In auffallender Weise zeigte sich hier auf beiden Kulturböden und auch auf den Kontrollplatten in weitaus vorwiegender Zahl (auf Gel. 42 Kolonieen) der stark fadenziehende Micrococcus Freudenreichii, woraus sich auch die hohe Prozentzahl der Kokken erklärt. 2½ Uhr: Gel. (75 Kolonieen): 42 K. No. 48, 2 andere weiße, verflüssigende Kokken. Ag. (146 Kolonieen): 95 Kokkenkolonieen, in gleicher Verteilung der Arten wie auf Gelatine, außerdem noch 2 gelbe Kokken. Der Micrococcus Freudenreichii war jetzt weder auf Gelatine, noch auf Agarplatten zu finden, ob er zu Grunde gegangen oder ob er infolge der höher gewählten Verdünnung nicht mehr aufgetreten, bleibt dahingestellt. 6 Uhr abends: Gel. (31 Kolonieen): 1 C. No. 48, 1 gelblicher Coccus. Ag. (ebenfalls 31 Kolonieen): 1 gelblicher Coccus, 1 große Kolonie, die aus kleineren zusammengesetzt war, entsprechend C. No. 48.

Wir konnten demnach eine Vermehrung speziell der verflüssigenden Kokken in allen Milchproben und bei jeder Temperatur konstatieren; dabei war, soweit es beobachtet werden konnte, mit dem Wechsel der Temperatur kein Wechsel der Arten verbunden.

Bei Untersuchung der Kulturen der ersten Versuche wurden von allen dem Aussehen der Kolonieen und dem mikroskopischen Bilde im hängenden Tröpfchen nach irgendwie verschieden erscheinenden Kokkenkolonieen Abstiche auf Molkengelatine gemacht, dann Material auf drei verschiedene Nährböden (Milch, Kartoffel und Molkengelatine) gebracht, die entwickelten Kulturen miteinander verglichen und identisch erscheinende Stämme ausgeschaltet. Es wären nun die verbleibenden morphologisch und kulturell näher zu verfolgen gewesen, wobei sich eventuell weitere Identitäten oder Zugehörigkeiten zu ein und derselben Species herausgestellt haben würden. Dieses Vorgehen

hätte aber zu weit geführt und daher wurde kurzerhand der Versuch gemacht, die vorhandenen Stämme je nach Pigmentbildung und Verflüssigungsvermögen in verschiedene Gruppen zu bringen, um alsdann je einen Vertreter dieser Gruppe näher zu beschreiben. Es wurden in Gruppe I weiße nicht verflüssigende, in Gruppe II weiße, verflüssigende, in Gruppe III gelbe, nicht verflüssigende und in Gruppe IV gelbe, verflüssigende Organismen zusammengefaßt.

Bevor ich aber auf die Beschreibung der einzelnen Gruppenvertreter eingehe, möchte ich noch einige Beobachtungen bezüglich des Gelatineverflüssigungsvermögens einzelner Stämme vorausschicken, das in gleicher Weise wie das Pigmentbildungsvermögen Schwankungen zu unterliegen scheint.

Die beiden Original-Molkengelatinestiche von Coccus No. 47 zeigten keinerlei Verflüssigung: auffallenderweise aber war bei einem später überimpften Stich nach 20 Tagen die Ausbreitung auf der Oberfläche um ca. $^1/_2$ cm in die Gelatine eingesunken, und obgleich von einer Flüssigkeit, d. h. aufgelöster Gelatine, nichts zu bemerken war, konnte man hier wohl von einem ganz schwachen und langsamen Verflüssigen resp. Erweichen, das vielleicht gerade mit dem Austrocknen des Nährbodens gleichen Schritt hielt, sprechen; im übrigen zeigte der Stich fadenförmiges Wachstum bis in die Tiefe.

Die Molkengelatineplatten zeigten ein ganz überraschendes Bild; während die meisten Kolonieen in einem flachen, ganzrandigen Verflüssigungsteller lagen, wiesen manche von ihnen keine Verflüssigung auf, beide Typen bildeten bei oberflächlicher Betrachtung flache Tröpfchen und unterschieden sich voneinander einzig und allein in dem genannten Verhalten zum Nährboden. Die Kolonieen waren am 4. Tage 1 mm groß, kreisrund, von rot- bis schmutziggelber Farbe; bei 100-facher Vergrößerung rotgelb, grob gekörnt; der hellere hohe Rand hob sich bei den verflüssigenden nicht so scharf ab. Sowohl von diesen, wie auch von den nicht verflüssigenden Kolonieen wurden Abstiche auf Molkengelatine gemacht, und je drei bei Zimmertemperatur, je drei andere im Thermostaten bei 20—22° gehalten; nach 20 Tagen und auch späterhin war in keinem der Stiche irgendwelche Auflösung des Nährbodens zu bemerken. Es schien mir daher dieser Coccus interessant genug zu sein, um ihn auch in seinem weiteren kulturellen Verhalten zu verfolgen.

Auf Agarplatten zeigte er weißliche, später hellgelbe glänzende Kolonieen von rundlich-unregelmäßiger Gestalt und fadenziehender Konsistenz; diese waren am 4. Tage im Maximum 1,5 mm groß, gegen das Licht gelb durchscheinend. Tiefenkolonieen kleiner, oval oder wetzsteinförmig. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop sind die Kolonieen feiner gekörnt als auf Gelatine, so daß der hellere Rand fast glatt erscheint.

Agarstich: Nach 36 Stunden bereits glänzend heller, gleichmäßiger Belag, $^1/_4$ cm breit, am Rande schwach gekerbt.

Milchzuckeragarstich: Nach 24 Stunden Wachstum in der Tiefe nur wenig schwächer, am Stichkanal, besonders im oberen Teile nach zwei Seiten hin kurze flügelartige Fortsätze; an der Oberfläche kleine, gelbliche, 4-lappige Auflagerung, die mit der Zeit eine rötlichgelbe Farbe annimmt, aber nicht wesentlich größer wird.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Wachstum auch in der Tiefe, an der Oberfläche aber bedeutend freudiger.

Bouillon: Nach 48 Stunden trübe; gelblich-weißes Sediment, das beim Umschütteln lange Fäden zieht.

Kartoffel: Am 3. Tag feiner, rötlich-gelber trockener Belag, nur dort, wo die Impfnadel gegangen ist.

Milch: Am 5. Tage dickflüssig, bei sonst unverändertem Aussehen, am 6. Tage brockig geronnen, am 7. unter der Rahmdecke gelblich-weißes Serum, das mit jedem Tage an Menge zunimmt. Eine Säurebestimmung gleich nach der Gerinnung zeigt, abzüglich des Säuregehaltes der Milch an sich, der stets zu 2,8—3° gefunden wurde, 1,8°, am 10. Tage 3,5°[1]). Geruch und Geschmack schwach ranzig, die Abschmelzungsfigur des gallertigen und zugleich etwas körnigen Koagulums läßt sich beim Umschütteln nicht gleichartig verteilen.

Der beschriebene Coccus, 0,8—1 μ groß, meist einzeln, seltener zu zweien und in Häufchen, stimmt, soweit sich bei der kurz gegebenen Beschreibung vergleichen läßt, mit dem von Barthel (1) als Micrococcus D aufgeführten Organismus überein. Nur insofern liegt eine Abweichung vor, als jener auf Gelatineplatten keine Verflüssigung zeigt, im Stich dagegen eine flache trichterförmige Einsenkung bildet, während der vorliegende zum Teil ein umgekehrtes Verhalten aufweist. Jedenfalls spricht auch Barthels Befund für die Variabiltät der Kokken hinsichtlich des Verflüssigungsvermögens.

Unter den Kokkenstämmen, die mit der Zeit gesammelt worden waren, befand sich ferner ein Coccus (No. 37), der in den ersten 2—3 Wochen Molkengelatine im Stich nicht verflüssigte, nach längerer Zeit aber deutlich eine Einsenkung an der Oberfläche bemerken ließ, die auf ein Austrocknen der Gelatine nicht zurückzuführen war. Möglich war es, daß im Laufe der Zeit, ähnlich wie dies schon bei Hefe beobachtet wurde, Autodigestion eingetreten war. Um über die diesbezüglichen Verhältnisse näheren Aufschluß zu erlangen, wurden Abstiche auf Molkengelatine gemacht und bei 30° im Thermostaten aufgestellt, da bei dieser Temperatur etwaige peptonisierende Enzyme schneller gebildet werden. Von Zeit zu Zeit wurde alsdann versucht, die Gelatine durch Abkühlung zum Erstarren zu bringen. Am 12. Tage wurden die betreffenden Kulturböden nicht mehr fest, sondern blieben stark zitternd, obgleich sie mehrere Stunden in kaltem Leitungswasser gehalten wurden, ebenso am 14. und 15. Tage. Am 18. jedoch wurden sie überraschenderweise nicht flüssig, sondern sie erstarrten vollständig.

Dieses eigentümliche Verhalten gab Anlaß zu einer Wiederholung des Versuches in exakterer Weise, d. h. unter genauer Beobachtung der dabei in Frage kommenden Temperatur- und Zeitverhältnisse; auch wurde diesmal außer Molkengelatine noch gewöhnliche Gelatine als Nährboden verwendet. Letztere zeigte bei $^1/_2$-stündiger Abkühlung auf $13^1/_2$—14° C zwischen dem 6.—7. Tage beginnende, am 8. Tage vollständige, dauernde Verflüssigung; anders aber verhielt sich der Molkengelatinestich; er war am 8. Tage erweicht, am 10. Tage und weiterhin wurde er wieder vollständig fest. Somit wurde das zuvor erhaltene Resultat, daß nämlich in Molkengelatine eine vorübergehende Verflüssigung resp. ein Erweichen des Nährbodens auftreten kann, dem bei gleichbleibender Temperatur eine Wiederversteifung folgt, be-

1) Es sei hier bemerkt, daß Säurebestimmungen stets in der Weise ausgeführt wurden, daß der geimpfte Nährboden, d. h. die zu 20 ccm abgefüllte, sterilisierte Milch, in 80 ccm destilliertem Wasser gut verteilt und, mit 1 ccm 2-proz. Phenolphtaleinlösung versetzt, in üblicher Weise mit $^1/_{10}$ Normal NaOH titriert wurde.

stätigt und gezeigt, daß Kokken in ihrem Verflüssigungsvermögen sich gegen Molkengelatine anders verhalten können als gegen gewöhnliche Gelatine, was auch mit späteren Befunden, wonach Molkengelatine unregelmäßiger und zuweilen, wohl infolge des Zuckergehaltes, scheinbar schwerer verflüssigt wurde, im Einklang steht. Ein gleiches Verhalten zeigte Coccus No. 46, der unter denselben Bedingungen Molkengelatine am 14. Tage trotz genügend tiefgehender Abkühlung nicht, dagegen vom 14. Tage ab konstant fest werden ließ. Bemerkenswert ist dieser Coccus auch in der Beziehung, daß er, analog einem Verhalten, wie es schon in einem Falle an Bact. fluorescens beobachtet wurde, mit der Zeit sein Verflüssigungsvermögen schnell einbüßte; die Original-Stichkultur war vollständig aufgelöst, ein Stich aber, der nach ca. 4 Wochen angelegt wurde, verflüssigte nicht mehr. Auch bei 30° gehaltene Stiche in Molken- wie in gewöhnlicher Gelatine wurden bis zum 25. Tage der Beobachtung bei Abkühlung immer wieder fest.

a) Beschreibung je eines Vertreters der 4 Kokkengruppen.

I. Gruppe: Weiße, nicht verflüssigende Kokken.

Vertreter Coccus No. 35: Er stammte von einer Molkengelatineplatte des 3. Versuchs, die um 11 Uhr angelegt war. Ein Molkengelatinestich lieferte das Ausgangsmaterial. Dieser Organismus behält seine reine weiße Farbe wochenlang bei, während viele andere, die anfang weiß oder weißlich waren, im Laufe der Zeit eine gelbliche bis bräunliche Farbe annahmen.

Mikroskopisches Bild: 1,2 μ große Kokken mit starker Neigung zu Sarcinenform; Diplokokken, Triaden und Tetraden häufig. In Oberflächen- und Tiefenkolonieen gleich.

Molkengelatineplatten: Weiße glänzende Tröpfchen in die Gelatine eingebettet, nicht größer als 1 mm. Bei 100-facher Vergrößerung ganz homogen dunkle Scheiben, nur am Rande gekörnt.

Agarplatten: Am 4. Tage bis 2 mm große, weiche, undurchscheinende Kolonieen. In der Tiefe kleiner, meist oval, zuweilen auch wetzsteinförmig. Bei 100-facher Vergrößerung hellbraun, grobkörnig.

Molkengelatinestich: Am 2. Tage gleichmäßiges, fadenförmiges Wachstum; sehr kleine Auflagerung, die sich nicht wesentlich vergrößert. Später kräftigeres, ziemlich glattes Wachstum im Stichkanal.

Agarstich: Nach 36 Stunden dünner, durchscheinender Belag, fast $^1/_2$ cm breit; darauf kleine, später undurchscheinende, glänzend weiße Tröpfchen.

Milchzuckeragarstich: Wachstum in der Spitze des Stichkanals, der mit mehr oder weniger großen Höckerchen, Spitzchen oder Zacken besetzt ist, nur wenig schwächer als im oberen Teil. Erst am 4. Tage sehr kleine lappige Auflagerung.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Am 2. Tage trübe infolge Wachstums durch die ganze Schicht; in der Oberflächengegend, ca. 1 cm tief, bedeutend freudigeres Wachstum.

Bouillon: An den Glaswandungen flockige Bakterienansammlungen, die beim Schütteln die sonst klare Bouillon stark trüben.

Milch: Scheinbar kein Wachstum; eine Säurebestimmung am 10. Tage ergab einmal 2,5 und ein andermal 1,9°, nach Abzug des Säuregrades der ungeimpften Milch.

II. Gruppe: Weiße, verflüssigende Kokken.

Vertreter Coccus No. 27: Von einer Agarplatte gelegentlich des 3. Versuches abgeimpft.

Mikroskopisches Bild: Schwankend in der Größe, besonders auf Agarstrich; 1—1,5 μ Durchmesser; in der Mitte ist oft eine punktförmige Verdichtung zu bemerken; einzeln, Diplokokken, auch Häufchen.

Molkengelatineplatten: Am 3. Tage $^1/_2$ cm große, weiße, eine Verflüssigungsschale, die nicht selten von der Kreisform abweicht, vollständig ausfüllende Kolonieen. Bakterienhaut in Flocken zerrissen, nur am Rande zusammenhängend; in der Mitte ist meist ein weißer Fleck zu beobachten. Später bleibt ein ziemlich breiter, gefranster Kranz an der Peripherie der Schale stehen, während die übrige Bakterienmasse mehr und mehr nach der Mitte zu zusammensinkt. Tiefenkolonieen $^1/_2$ mm groß, undurchscheinend, weiß und rund. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Oberflächenkolonieen grobkörnig und zerfetzt, tiefliegende in der Mitte homogen, nur am zerbröckelten Rande grobkörnig.

Agarplatten: Am 4. Tag ca. 2 mm große, milchweißglänzende Kolonieen von runder Gestalt. Tiefliegende im Agar gelblich erscheinend, von ganz unregelmäßiger Form, anscheinend zusammen- und durcheinander gewachsen. Bei 100-facher Vergrößerung: Oberflächenkolonieen grobkörnig, Rand heller und homogen.

Molkengelatinestich: Nach 24 Stunden schwaches geperltes Wachstum im Stichkanal, in der Tiefe nur wenig schwächer. Oben weiße, dünne, gelappte Ausbreitung mit undeutlicher Zeichnung. Nach weiteren 24 Stunden schalenförmige Verflüssigung; am Grunde derselben ist ein weißes, rundes Scheibchen bemerkbar. Nach 4 Tagen beginnende cylinderförmige Verflüssigung; obenauf schwimmt eine weiße, zusammenhängende Haut, die am Rande kurze Lappen aufweist. Nach 8 Tagen ist etwa $^1/_4$ des Nährbodens aufgelöst, die Verflüssigungszone trübe, darüber die Haut, am Grunde kräftiges weißes Sediment.

Agarstrich 30°: Nach 36 Stunden üppiger, 3 mm breiter, zart weißer, glänzender Belag. Es läßt sich deutlich eine Mittelrippe erkennen, von der aus Falten nach dem schwach gekerbten Rande gehen.

Milchzuckeragarstich: Aehnlich wie auf Molkengelatine, Wachstum in der Tiefe schwächer, der Stichkanal ziemlich regelmäßig mit flügelartigen Fortsätzen besetzt. Die matt glänzende zartweiße Auflagerung ist am 2. Tage $^1/_2$ cm groß, dünn, am Rande gelappt und weist später eine unbestimmte Zeichnung auf.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Zeigt ausgesprochen aërobes Wachstum, indem sich oben ein weißer Kulturrasen bildet, während in der Tiefe kein Wachstum auftritt.

Bouillon: Kräftiges Wachstum, der reichlich gebildete Bodensatz wirbelt fädig auf. In Zusammenhang mit dem streng aëroben Wachstum Ansatz zur Hautbildung, indem sich auf dem Nährboden ein Ring an der Glaswandung bildet, der später zu Boden fällt.

Kartoffel: Nach 24 Stunden feiner, matt glänzender, weißer Belag, am 8. Tage üppig.

Milch: Erst am 6.—7. Tage brockig-gallertig geronnen, kein auffallender Geruch oder Geschmack, 2,2° Säure, am 10. Tage ranzig und 4,4° Säure. Die eigentliche Säureproduktion geht also erst vor sich,

nachdem, offenbar durch Labausscheidung, die Milch zur Gerinnung gebracht wurde, denn die Säuremenge, welche bis zu diesem Vorgange gebildet wird, ist zu gering, als daß sie als Ursache der Gerinnung angesehen werden dürfte. Demzufolge gehört dieser Organismus zu der von Gorini als „säurelabbildend" bezeichneten Bakteriengruppe.

Mit keinem der von v. Freudenreich und Thöni (1) beschriebenen Stämme ist dieser Coccus identisch, dagegen zeigt ein anderer Vertreter dieser Gruppe (der Coccus No. 41) große Aehnlichkeit mit den von genannten Autoren unter Typ. II var. a u. b beschriebenen Organismen. Ihre gelben und weißen verflüssigenden Kokken sind, wie auch Weigmann (1) vermutet, wohl zum Teil mit den von Guillebeau beschriebenen Organismen, Staphylococcus mastitis aureus und albus, identisch. Lux (1) beschreibt drei Varietäten des letzteren, die sich nur in der Art der Verflüssigung unterscheiden.

Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle noch einen zweiten Vertreter aus der Gruppe II zu beschreiben; es ist dies der zuvor so oft erwähnte Coccus No. 48, der in den später mit Milch aus Stall II angestellten Versuchen regelmäßig auftrat.

Mikroskopisches Aussehen: Auf Agarstrich sind nach 24 Stunden 1—1,5 μ große Zellen, Diplokokken in charakteristischer Form, ferner Triaden und Tetraden zu finden, letztere selten, noch seltener treten Einzelorganismen auf. (Ovale Zellen waren offenbar im Vorstadium ihrer Teilung begriffen.) In der Mitte der Zelle markiert sich meistens ein dunkler Punkt. Mitunter können die Individuen bis zu 2 μ groß werden und in Bouillon überschreiten sie nicht selten die Größe von 1,5 μ.

Molkengelatineplatten: Nach 24 Stunden bei schwacher Vergrößerung rundliche, gelbe, gekörnte Kolonieen, die 0,1 mm Durchmesser haben. Nach 48 Stunden beginnt sich eine Erweichungszone in Form eines Schälchens zu differenzieren, und nach 3 Tagen liegt eine 1 mm große, weiße, unzerteilte Flocke im Grunde eines $^1/_2$ cm breiten Verflüssigungstrichters. Bei 100-facher Vergrößerung ist die Flocke gelblich-braun, in der Mitte homogen, nach dem Rande zu grobgekörnt und zerrissen. Die Kolonie wird $2^1/_2$—3 mm groß, schwach gelblich und löst sich nach 5—6 Tagen in Brocken auf.

Agarplatten: Nach 48 Stunden ca. 2 mm, nach 3 Tagen bis 3 mm große weiße, gelblich angehauchte, glänzende Kolonieen von rundlicher, ganzrandiger Form; in der Mitte differenziert sich eine Erhebung. Am 6. Tage haben die Kolonieen einen gelblichen Ton angenommen und sind $3^1/_2$ mm groß. Bei 100-facher Vergrößerung am leicht gewellten und scharf begrenzten Rande deutlich gekörnt.

Molkengelatinestich: Nach 24 Stunden Stichkanal mit feinen, weißen Perlen besetzt, keine merkliche Auflagerung. Im oberen Teile, fast bis zur Mitte hinabgehend, schlauchförmige Verflüssigung angedeutet; die weiße Bakterienmasse beginnt nach unten zu gleiten. Nach 48 Stunden langer Verflüssigungstrichter, am Grunde desselben Bakterienansammlung, die am 4. Tage eine gelbliche Farbe angenommen hat. Nach 7 Tagen kann bereits der ganze Inhalt trübe verflüssigt sein; an der Oberfläche ist alsdann ein runzeliges, fadenziehendes Häutchen sichtbar. Die Verflüssigungsintensität ließ beim Weiterzüchten nach.

Milchzuckeragarstich: Nach 24 Stunden Wachstum bis zur Mitte des Stichkanals ziemlich kräftig, knötchentragend; oben dünne, durchscheinend weiße Auflagerung. Am 3. Tage ist das Wachstum in

der Tiefe fast ebenso kräftig und nach 8 Tagen scheint es dort sogar etwas stärker zu sein als in der Mitte. Die rundliche, flache Ausbreitung hat eine gelbliche Farbe angenommen, der Rand ist ziemlich regelmäßig und fein gelappt.

Agarstrich: Nach 24 Stunden bei 20° C schwacher, weißlicher, am Rande geperlter Belag; dieser ist bei 30° kräftiger, bei 40° am üppigsten. Im Kondenswasser kräftiges Sediment.

Milchzuckeragar-Schüttelkulturen: Sie zeigen ein fakultativ anaërobes Wachstum, das immerhin an der Oberfläche kräftiger ist als in der Tiefe.

Bouillon: Nach 48 Stunden vollständig trübe; fadenförmig aufwirbelnder Bodensatz; später Aufhellung des Nährbodens infolge ausgiebiger Sedimentierung.

Kartoffel: Am 3. Tage ein feiner hellgelber Hauch, am 4. Tage ganz dünner trockener Belag.

Milch: Nach 48 Stunden bei 20° C ist der Rahm fadenziehend; nach 3 Tagen findet sich unter der Rahmdecke eine allerdings nicht scharf begrenzte Aufhellungszone, die ganz allmählich an Ausdehnung zunimmt. Es tritt zuvor keine Koagulation ein. Nach 14 Tagen bietet sich folgendes Bild: obenauf schwimmt die fadenziehende Rahmdecke; etwa die Hälfte des Volumens wird von hellgelbem klaren Serum eingenommen, am Boden liegt das gallertige Koagulum. Bei 30° nach 45, bei 37° nach 40 Stunden brockige Gerinnung, die Rahmdecke hat eine zähe Konsistenz angenommen. Der Säuregrad ist sehr gering, am 12. Tage betrug der Säuregrad bei 30° C 3,7, bei 37° 3,0.

Vorliegender Organismus zeigt viel Uebereinstimmung mit dem von Krüger (1) beschriebenen Micrococcus acidi lactici. Abgesehen davon aber, daß dieser Gelatine langsamer verflüssigt, bewegt sich nach Angabe Krügers das Wachstumsoptimum seines Coccus zwischen 20—22° C, wäurend der vorliegende sein Optimum bei 40° C hatte. Milch brachte jener „nach Art der spontanen Gerinnung" bei 20—25° C nach 3 Tagen zur Gerinnung. Soweit Krüger ihn sonst beschreibt, lassen sich keine wesentliche Differenzen konstatieren. Auch darin herrscht Uebereinstimmung, daß vorliegender Coccus in Milch ein etwas schmieriges Koagulum erzeugt und einen eigentümlichen kleisterartigen Geruch, wie ihn Krüger für seinen Coccus erwähnt, hervorruft. Auch bei dem von mir gefundenen Coccus deutete der bitterliche Geschmack der Milchkulturen auf das Vorhandensein peptonartiger Körper hin. Appel (Backhaus und Appel, 1) erklärt seinen in aseptisch gewonnener Milch gefundenen Micrococcus für identisch mit dem von Krüger aus käsiger Butter isolierten und beschreibt ihn noch etwas eingehender, er gibt aber als Optimaltemperatur 40—45° C an, Krüger dagegen für seinen Organismus, wie schon erwähnt, 20—22° C. Mit Appels Angabe würde das an meinem Coccus beobachtete Verhalten übereinstimmen, die sonstigen kulturellen Eigenschaften lassen aber kaum eine Identität, sondern nur eine Verwandtschaft konstatieren. Eine solche gibt sich auch leicht gegenüber dem von v. Freudenreich (1) so oft erwähnten „verflüssigenden Coccus" zu erkennen, den er p. 344 (loc. cit.) unter Var. b beschreibt und der bei der Käsereifung eine Rolle zu spielen scheint (2).

(Fortsetzung folgt.)

Beiträge zur Biologie der Uredineen.

Von **Rudolf Bock** in Hamburg.

Mit 2 Figuren.

Die große Mehrheit der in neuerer Zeit angestellten experimentellen Untersuchungen von Uredineenarten führte zu einer Zerlegung derselben in eine Anzahl von biologischen Species. Die vorliegende Arbeit soll für einige weitere Uredineen, nämlich für die auf zahlreichen Nährpflanzen vorkommenden Puccinia Gentianae, Uromyces Geranii und Puccinia Violae die Frage nach einer Spezialisation prüfen. Es stellte sich jedoch heraus, daß eine solche bei diesen Arten nicht oder nur in geringem Grade vorliegt. Man ersieht hieraus, daß a priori nicht gesagt werden kann, ob bei einer Uredineenart eine Spezialisation vorliegt oder nicht, sondern daß eine Prüfung von Fall zu Fall nötig ist. Im Anschluß an diese Arbeit wurden außerdem Puccinia alpina, Uredo alpestris und Puccinia obtusata untersucht.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die durch Schütteln des Infektionsmateriales mit Wasser aus den Lagern losgelösten und nun im Wasser suspendierten Sporen vermittelst eines Zerstäubers auf die zu infizierenden Pflanzen aufgetragen wurden, worauf die Pflanzen durch innen mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidete Glasglocken bedeckt wurden; diese Glocken wurden nach 3 Tagen abgenommen und alsdann die Pflanzen zwecks Vermeidung von Fremdinfektion in getrennte Gewächshäuser resp. Versuchszellen gestellt. Bestand das Infektionsmaterial aus teleutolagerhaltigen Blättern, so wurden diese vor dem Schütteln einen Tag in Wasser aufgeweicht; bestand es aus Blättern mit Lagern von Aecidio- oder Uredosporen, so wurden nach dem Zerstäuben der Sporen noch die Blätter auf die Versuchspflanzen gelegt. Die nicht zu Versuchen verwendeten Pflanzen dienten mir zur Kontrolle; diese Pflanzen blieben stets gesund. Sie fanden Aufnahme in der Orangerie des botanischen Gartens zu Bern; für ihre Pflege bin ich Herrn Obergärtner Schenk und seinen Gehilfen Dank schuldig.

I. Puccinia Gentianae Strauss.

Puccinia Gentianae Str. ist eine autoecische Eu-Puccinia, welche auf einer Reihe von Gentiana-Arten vorkommt; und zwar finde ich als Nährpflanzen angegeben: Gentiana acaulis, acuta, adscendens, adsurgens, Andrewsii, asclepiadea, ciliata, cruciata, excisa, firma, gelida, heterosepala, imbricata, Kurroo, macrophylla, oregana, Parryi, phlogifolia, Pneumonanthe, puberula, quinqueflora, utriculosa, Walyewi[1]). Eine morphologische Untersuchung der Teleutosporen von P. Gentianae auf G. acaulis, excisa, cruciata und Pneumonanthe wurde von Ed. Fischer[2]) ausgeführt und ergab eine Verschiedenheit derjenigen auf den ersten 3 Gentianen von denen auf G. Pneumo-

1) Sydow, P. et H., Monographia Uredinearum. Vol. I. Puccinia. p. 341 et 885.
2) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz, p. 165.

nanthe insofern, als diese im allgemeinen etwas schmäler als die ersteren waren und außerdem, im Gegensatz zu jenen, Formen zeigten, bei denen sich die Basis der Spore in den Stiel verschmälerte.

Ed. Fischer vermutete daher, daß die Form auf G. Pneumonanthe als besondere Art abzutrennen wäre. Diese Frage nach einer Spezialisierung der Puccinia Gentianae suchte ich nun durch eine weitere morphologische Untersuchung, sowie vor allem durch eine Anzahl von Infektionsversuchen zu beantworten.

Das Zeichnen und Messen einer Anzahl von Teleutosporen von P. Gentianae auf G. Pneumonanthe, cruciata, excisa, acaulis, heterosepala und acuta ergab folgende Resultate. Die Teleutosporen auf G. Pneumonanthe (aus Sydows Uredineen No. 1124) besitzen im allgemeinen denselben Längsdurchmesser wie die auf G. cruciata, excisa u. s. w., doch ist der Querdurchmesser etwas geringer; außerdem zeigen die Sporen auf G. Pneumonanthe häufig das Bestreben, sich gegen den Stiel zu verschmälern, während diejenigen auf den anderen von mir untersuchten Gentiana-Arten in weitaus überwiegender Anzahl an beiden Enden gerundet sind. Die Teleutosporen auf G. heterosepala (Amerika bor., aus Sydows Uredineen No. 1587) haben die Eigentümlichkeit, daß etwa ein Drittel von ihnen dreizellig ist, wobei die einzelnen Zellen stets in der Längsachse der Spore angeordnet sind.

Die Messungen erzielten folgende Zahlenreihen:

	Längsdurchmesser	Querdurchmesser
G. Pneumonanthe	27 —42,8 μ	21 —28,5 μ
G. cruciata	30 —44 μ	24 —31 μ
G. acaulis	28,5—47,6 μ	23,8—33,3 μ
G. excisa	30,9—47,6 μ	23,8—33,3 μ
G. acuta	33,3—50 μ	23,8—30,9 μ
G. heterosepala		
zweizellig	33,3—40,5 μ	26.2—31 μ
dreizellig	42,8—47,6 μ	23,8—26,2 μ

Da ferner die vom Pilz befallenen G. Pneumonanthe, im Gegensatz zu den anderen Gentianen, eine starke Entwickelung von Sporenlagern auf dem Stengel aufweisen, so lag die Frage nahe, ob vielleicht der auf G. Pneumonanthe sich vorfindende Pilz perenniere, bezw. mit seinem Mycel ganze Sprosse durchziehe. Es wurden infolgedessen Quer- und Längsschnitte durch Stengel und Blätter von gesunden sowie von kranken G. Pneumonanthe gemacht. Ich konnte dabei nur konstatieren, daß im allgemeinen die Stengelquerschnitte der kranken Pflanzen eine stärkere Ausbildung der Rinde und ein Zurücktreten des Sklerenchyms und des Markes gegenüber denjenigen der gesunden Pflanzen zeigten. Weitere und durchgreifendere Unterschiede zwischen kranken und gesunden Pflanzen konnten aber nicht festgestellt werden. Auch gelang es mir nicht, Hyphen in den befallenen Gentianen an anderen Orten wie ganz in der Nähe der Teleutosporenlager nachzuweisen. Es ist also die Frage, ob der Pilz auf G. Pneumonanthe perenniere, offen zu lassen, wenn auch vor allem das für ein Perennieren charakteristische dichte Auftreten der Teleutosporenlager fehlt.

Die Infektionsversuche mit P. Gentianae erstreckten sich über die Sommermonate der Jahre 1906 und 1907. Es stand mir an Infektionsmaterial zur Verfügung: Teleutosporen auf G. acaulis, excisa und cruciata; Aecidiosporen auf G. excisa und cruciata; Uredosporen auf G. excisa und cruciata.

Die Versuchspflanzen waren folgende Gentiana-Arten:	Bezogen von:
*acaulis L.	Botanischer Garten zu Bern
acaulis bosniaca	Alpengarten v. Sündermann, Lindau i. B.
*alpina Vill.	Gusmus, Klagenfurt in Oesterreich
*Andrewsii Griseb.	Handelsgärtnerei von Haage & Schmidt, Erfurt
angustifolia Vill.	Sündermann
*asclepiadea L.	Kiental im Berner Oberland; Haage & Schmidt
*bavarica L.	Sündermann; Froebel in Zürich
brevidens Frank u. Sav.	Sündermann
Burseri Lapeyr	Gusmus
Charpentieri Thom. (= lutea × punctata	"
Clusii Perr. u. Song.	Sündermann
*cruciata L.	Botanischer Garten Bern; Kiental
*dahurica Fisch.	Correvon in Genf
*decumbens L.	Haage & Schmidt
*excisa Presl.[1]	Bot. Garten Bern; Froebel; Sündermann
Fetisowi Rgl. u. Winkler	Correvon in Genf
firma Kern	Gusmus; Sündermann
Freyniana Bornem.	Sündermann
*Froelichii Jan.	Gusmus
imbricata Froel.	"
Kesselringi Regel	Sündermann
lutea L.	Bot. Garten Bern; Sündermann; Kiental
*macrophylla Pall.	Sündermann
*Olivieri Griseb.	"
pannonica Scop.	"
pannopurpurea Gusm. (= pannonica × purpurea)	Gusmus
*Pneumonanthe L.	Selhofenmoos bei Bern; Haage & Schmidt; Froebel
Przewalskii Maxim.	Sündermann
*pumila Jacqu.	Gusmus
punctata L.	Botanischer Garten Bern
purpurea L.	Grimmialp im Berner Oberland; Sündermann
*pyrenaica L.	Sündermann
Regelii Kusnez.	"
scabra Bng.	"
*septemfida Pall.	Froebel
siphonantha Maxim.	Gusmus
straminea Maxim.	Sündermann; Correvon
Thomasii Hall (= purpurea × lutea)	Gusmus
tibetica King	Sündermann
*verna L.	Sündermann; Gusmus
Walujewi Rgl.	Gusmus

Diejenigen Pflanzen, welche ich mit Sicherheit zu verifizieren vermochte, sind durch einen Stern (*) gekennzeichnet; die übrigen waren meistens noch zu jung, um bestimmt werden zu können. Bei der Beschreibung der Infektionsversuche bedeutet die Bemerkung: „vom Versuch III. 5" hinter dem Namen einer Pflanze, daß diese schon zum Versuch III als Topf No. 5 gedient hatte. Ist bei einem Versuche über eine Pflanze nichts angegeben worden, so wurde dieselbe nicht infiziert und diente, nachdem sie eine genügende Zeit hindurch isoliert war, nach Bedarf zu weiteren Versuchen.

1) Ich konnte nicht in allen Fällen sicher entscheiden, ob die vorliegende Pflanze als G. excisa oder acaulis zu bezeichnen wäre; das ist aber, da G. excisa nur eine Varietät von G. acaulis ist, für die Versuche von keinerlei Bedeutung.

Versuche vom Jahre 1906.

Versuch I.

Der 1. Versuch wurde am 27. April 1906 mit Teleutosporen von P. Gentianae auf G. acaulis ausgeführt, welche aus dem Garten des Herrn Bauer-Wyder in Bern stammten. Die auf einen Objektträger verstäubten Sporen keimten nach 3—4 Tagen. Die Versuchspflanzen waren 4 Töpfe mit

I. 1—4. Gentiana excisa.

Am 9. Mai wurden die ersten Pykniden festgestellt.

Mitte Juni waren sämtliche Pflanzen reichlich mit Aecidien bedeckt.

Am 8. Juni traten Uredolager auf.

Bis zum 20. Juli waren keine Teleutosporen in den Uredolagern zu bemerken.

Versuch II.

Am 11. Mai wurden weitere 8 Töpfe

II. 1—8. Gentiana excisa

mit Teleutosporen von G. acaulis bespritzt.

Am 26. Mai waren Pykniden und Aecidien und am 20. Juli Teleutosporen festzustellen.

Versuch III.

Am 30. Mai wurden Aecidiosporen, die von dem Versuch I. 1—4 stammten, zerstäubt auf:

III. 1—3. Gentiana punctata
4—6. „ cruciata

19. Juni. Uredo waren auf G. punctata III. 2 festzustellen.

21. Juni. Sämtliche G. punctata III. 1—3 und eine G. cruciata III. 5 waren mit Uredolagern bedeckt.

Bis zum 20. Juli waren keine Teleutosporen vorhanden.

Versuch IV.

Mit Uredosporen auf G. excisa vom Versuch I wurden am 11. Juni bespritzt:

IV. 1 und 2. Gentiana punctata
3 „ 4. „ cruciata

26. Juni. Sämtliche Pflanzen besitzen Uredolager.

Bis zum 20. Juli waren keine Teleutosporen nachweisbar.

Versuche vom Jahre 1907.

a) Mit Teleutosporen, die von Gentiana excisa stammten.

Es wurden mit Teleutosporen auf G. excisa, welche ich in Münsingen bei Bern in dem Garten des Herrn Bauer-Wyder, dem ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank für sein freundliches Entgegenkommen ausdrücken möchte, sammelte, die Infektionsversuche V—VIII angestellt. Auf Objektträger verspritzte Sporen keimten, wenn auch nicht gerade reichlich.

Versuch V.

Es wurden mit diesem Material am 7. Mai 1907 vier Gentiana-Arten zu infizieren versucht, nämlich:

V. 1. Gentiana excisa vom botan. Garten Bern
2. " acaulis " " " "
3. " punctata " " " "
4. " lutea " " " "

Am 23. Mai waren von G. acaulis 3 Blätter, von G. excisa 1 Blatt mit Pykniden besetzt.

4. Juli. Es ist nichts mehr von der Infektion zu sehen, da die befallenen Blätter abgefault sind.

Versuch VI.

Ein weiterer Versuch mit Teleutosporen von G. excisa wurde am 24. Mai mit folgenden Gentianen angestellt:

VI. 1. Gentiana excisa vom botan. Garten Bern
2. " acaulis " " " "
3. " cruciata vom Versuch III. 5
4. " asclepiadea aus dem Kiental
5. " punctata vom botan. Garten Bern
6. " " von Versuch III. 1
7. " purpurea von der Grimmialp
8. " lutea vom botan. Garten Bern

Am 3. Juni hatte G. acaulis 3 Pykniden auf einem Blatt.
4. Juni. G. cruciata zeigt 7 Pykniden auf 2 Blättern.
7. Juni. 1 Blatt von G. punctata ist reichlich mit Pykniden bedeckt.
12. Juni. G. purpurea besitzt 1 Pyknide auf einem Blatt.
25. Juni. G. asclepiadea hat 1 Pyknide am Stengel.
4. Juli. Es sind keine weiteren Pflanzen befallen worden.

Versuch VII.

Am 3. Juni wurden mit G. excisa-Material bespritzt:

VII. 1. Gentiana excisa vom botan. Garten Bern
2. " acaulis " " " "
3. " cruciata von Versuch III. 4
4. " asclepiadea aus dem Kiental
5. " Pneumonanthe vom Selhofenmoos
6. " punctata vom Versuch IV. 2
7. " " " " V. 3
8. " purpurea von der Grimmialp
9. " lutea vom Versuch V. 4

Am 15. Juni traten auf G. cruciata reichlich Pykniden und einige Uredolager auf. Diese Uredolager sind offenbar durch eine Fremdinfektion mit Aecidiosporen vom Versuch V hervorgerufen (vgl. p. 579), die beim Kontrollieren der Versuche verschleppt worden sind. Der Topf mit G. cruciata wurde sofort isoliert, doch können trotzdem Uredosporen auf die anderen Versuchspflanzen gefallen sein. Außerdem zeigte G. purpurea zahlreiche Pykniden.

Am 17. Juni waren an G. Pneumonanthe 2 Pykniden an einem Stengel und einem Blatt zu sehen.

Am 20. Juni waren an G. asclepiadea 2 Pykniden am Stengel vorhanden; auf G. cruciata und G. purpurea traten Aecidien auf.

27. Juni. G. acaulis, excisa und punctata sind eingegangen; G. cruciata zeigt viele Uredolager.

4. Juli. Bei G. purpurea faulen die infizierten Stellen aus.

4. und 26. Juli. An G. asclepiadea und Pneumonanthe ist nichts mehr von der Infektion zu bemerken.

26. Juli. G. purpurea zeigt viele Uredolager an einigen Blättern.

Versuch VIII.

Am 19. Juni wurden Teleutosporen von G. excisa zerstäubt auf:

VIII. 1. Gentiana excisa von Sündermann
2. „ acaulis vom botan. Garten Bern
3. „ Clusii von Sündermann
4. „ firma „ „
5. „ verna „ „
6. „ bavarica „ „
7. „ cruciata vom botan. Garten Bern
8. „ decumbens von Haage & Schmidt
9. „ asclepiadea „ „ „
10. „ Pneumonanthe „ „ „
11. „ Andrewsii „ „ „
12. „ scabra von Sündermann
13. „ brevidens von Sündermann
14. „ lutea vom botan. Garten Bern

1. Juli. G. excisa und scabra zeigen Pykniden.

4. Juli. G. excisa besitzt 5 Pykniden auf 2 Blättern, G. scabra 6 Pykniden auf 2 Blättern, G. acaulis 3 Pykniden auf einem Blatt und G. asclepiadea 3 Pykniden auf 2 Blättern.

9. Juli. G. excisa und acaulis haben Aecidien; G. asclepiadea weist 8 Pykniden an 4 Blättern und G. Clusii 3 Pykniden an einem Blatt auf; bei G. scabra sind die Pykniden ausgefault.

19. Juli. G. asclepiadea und G. Clusii zeigen Aecidien; bei G. excisa und acaulis sind dieselben ausgefault; G. lutea ist eingegangen.

b) Versuche mit Teleutosporen, welche von Gentiana cruciata stammten.

Mit Teleutosporen von G. cruciata, welche ich im Herbst 1906 im Kiental im Berner Oberland sammelte, wurden die Infektionsversuche IX—XV angestellt. Auf Objektträger zerstäubte Teleutosporen keimten meist reichlich.

Versuch IX.

Am 26. April 1907 wurden mit Teleutosporen auf G. cruciata bespritzt:

IX. 1. Gentiana excisa vom botan. Garten Bern
2. „ acaulis „ „ „ „
3. „ punctata „ „ „ „
4. „ lutea „ „ „ „

10. Mai. G. acaulis zeigt Pykniden.

31. Mai. G. acaulis hat 18 Pykniden auf 2 Blättern.

4. Juli. Auf einem Blatt von G. acaulis findet sich ein Aecidienlager.

9. Juli. G. acaulis besitzt einige Uredolager.

Versuch X.

Ein weiterer Versuch mit Material, das von G. cruciata stammte, wurde am 14. Mai ausgeführt mit:

X. 1. Gentiana cruciata vom Versuch IV. 4
2. „ asclepiadea aus dem Kiental
3. „ excisa vom botan. Garten Bern
4. „ acaulis „ „ „ „
5. „ punctata von Versuch III. 2
6. „ „ vom botan. Garten Bern
7. „ purpurea von der Grimmialp
8. „ lutea vom botan. Garten Bern

Am 29. Mai traten Pykniden auf an G. cruciata, asclepiadea, punctata X. 5 und purpurea; und zwar waren nach einigen Tagen von G. cruciata 8 Blätter sehr reichlich, 3 Blätter weniger reichlich, und von G. punctata X. 5 2 Blätter reichlich befallen; G. asclepiadea hatte 7 Pykniden am Stengel und G. purpurea 2 Pykniden am Stengel und zwei an Blättern.

4. Juli. Bei G. cruciata, punctata und purpurea sind die infizierten Blätter abgefault; ein Stengel von G. purpurea zeigt Pykniden; der Stengel von G. asclepiadea weist reichlich Uredolager auf.

24. Juli. G. cruciata, punctata und asclepiadea besitzen viele Uredolager; G. purpurea ist eingegangen. Die Uredolager auf G. cruciata und punctata sind, da die mit Pykniden besetzten Blätter abfaulten, durch Fremdinfektion mittelst Uredosporen vom Versuch XI zu erklären, der mit Versuch X in derselben Zelle stand und schon am 4. Juli Uredosporen aufwies. Ueber G. asclepiadea vergl. p. 579.

Versuch XI.

Am 30. Mai wurden mit Teleutosporen von G. cruciata bespritzt:

XI. 1. Gentiana cruciata vom Versuch III. 6
2. „ asclepiadea aus dem Kiental
3. „ Pneumonanthe vom Selhofenmoos
4. „ excisa vom Versuch IX. 1
5. „ acaulis vom bot. Garten Bern
6. „ punctata vom Versuch III. 3
7. „ punctata vom Versuch IX. 3
8. „ purpurea von der Grimmialp
9. „ lutea vom Versuch IX. 4

Am 8. Juni haben 4 Blätter von G. cruciata reichlich Pykniden.

Am 10. Juni weisen 2 Blätter von G. Pneumonanthe zusammen 6 Pykniden auf.

12. Juni. Ein Stengel von G. asclepiadea zeigt 6 Pykniden; G. Pneumonanthe hat viele Pykniden an 2 Stengeln und 5 Blättern, und G. purpurea besitzt an 4 Stengeln 11 Pykniden.

Am 14. Juni finden sich auf 2 Blättern von G. acaulis 2 Pykniden.

20. Juni. Es treten bei G. cruciata und G. purpurea Aecidien auf.

24. Juni. G. Pneumonanthe hat ebenfalls Aecidien.

4. Juli. G. purpurea und asclepiada zeigen reichliche Aecidien am Stengel, G. Pneumonanthe ebenfalls und außerdem an 5 Blättern; G. cruciata hat 10 Uredolager auf 4 Blättern.

9. Juli. G. cruciata ist stark mit Uredolagern besetzt.

26. Juli. 4 Blätter von G. Pneumonanthe weisen zusammen 11 Uredolager auf.

13. Aug. 4 Blätter von G. Pneumonanthe und 2 Blätter von G. purpurea sind reichlich mit Uredolagern besetzt; G. asclepiadea ist verfault und an G. cruciata sind keine Anzeichen einer Infektion mehr zu erkennen.

Versuch XII.

Am 7. Juni wurden bespritzt:

XII. 1. Gentiana cruciata vom bot. Garten Bern
2. „ asclepiadea aus dem Kiental
3. „ excisa vom Versuch X. 3
4. „ acaulis vom bot. Garten Bern
5. „ „ vom Versuch X. 4

6. Gentiana punctata vom Versuch X. 6
7. „ lutea vom Versuch X. 8

Am 17. Juni zeigten 4 Blätter von G. cruciata reichlich Pykniden.

25. Juni. G. asclepiadea besitzt eine Pyknide am Stengel.

27. Juni. G. punctata ist eingegangen.

4. Juli. Der Stengel von G. asclepiadea hat einige Pykniden.

9. Juli. G. cruciata zeigt Uredolager; G. asclepiadea ist am Stengel reichlicher mit Pykniden besetzt.

26. Juli. G. cruciata weist viele Uredolager auf; an G. asclepiadea sind Aecidien zu bemerken; diese Pflanze beginnt einzugehen.

Diese Uredolager auf G. cruciata können, da keine Aecidien festgestellt wurden, durch Fremdinfektion vom Versuch XI aus erklärt werden, der sich mit XII in derselben Zelle befand und schon seit dem 20. Juni Aecidien zeigte; vergl. p. 578.

Versuch XIII.

Es wurden am 12. Juni Teleutosporen von Gentiana cruciata zerstäubt auf:

XIII. 1. Gentiana cruciata vom bot. Garten Bern
2. „ decumbens von Haage & Schmidt
3. „ Pneumonanthe von „ „
4. „ asclepiadea von „ „
5. „ excisa von Sündermann
6. „ acaulis vom bot. Garten Bern
7. „ Clusii von Sündermann
8. „ firma von Sündermann
9. „ bavarica von Sündermann
10. „ brevidens von Sündermann
11. „ lutea vom bot. Garten Bern

Am 24. Juni zeigten sich auf G. cruciata 3 Pykniden auf einem Blatt und auf G. Pneumonanthe 4 Pykniden auf einem Blatt.

27. Juni. 7 Blätter von G. cruciata und 6 Blätter von G. decumbens sind reichlich mit Pykniden bedeckt.

1. Juli. G. firma hat Pykniden.

4. Juli. Bei G. cruciata, Pneumonanthe und decumbens faulen die infizierten Stellen aus, so daß Löcher in den Blättern entstehen; G. lutea ist eingegangen.

9. Juli. G. excisa weist 9 Pykniden an einem Blatt auf.

Versuch XIV.

Am 15. Juni wurden mit Teleutosporen von G. cruciata bespritzt:

XIV. 1. Gentiana excisa vom Versuch XI. 4
2. „ „ von Sündermann
3. „ acaulis vom Versuch XI. 5
4. „ Clusii von Sündermann
5. „ firma von Sündermann
6. „ bavarica von Sündermann
7. „ brevidens von Sündermann
8. „ punctata vom Versuch XI. 6
9. „ „ „ „ XI. 7
10. „ lutea „ „ XI. 9

Auf dem Objektträger keimten wenige Sporen.

4. Juli. G. Clusii besitzt 8 Pykniden an 3 Blättern; G. lutea ist eingegangen.

9. Juli. G. firma zeigt 2 Pykniden auf einem Blatt.

19. Juli. G. bavarica ist eingegangen.
2. Aug. Beide G. excisa sind eingegangen.

c) Versuche mit Aecidiosporen, die von Gentiana cruciata stammten.

Versuch XV.

8. Juli. Mit Aecidiosporen, welche ich auf G. cruciata im Kiental (Berner Oberland) am 7. Juli sammelte, wurden folgende Gentiana-Arten bespritzt:

XV. 1. Gentiana cruciata aus dem Kiental
2. „ „ „ „ „
3. „ Regelii von Sündermann
4. „ tibetica „ „
5. „ asclepiadea aus dem Kiental
6. „ „ „ „ „
7. „ Pneumonanthe von Froebel
8. „ „ „ „
9. „ excisa „ „
10. „ firma von Gusmus
11. „ alpina „ „
12. „ angustifolia von Sündermann
13. „ pumila von Gusmus
14. „ punctata vom Versuch VI. 6
15. „ lutea aus dem Kiental
16. „ Przewalskii von Sündermann
17. „ Kesselringi „ „

26. Juli. Fast alle Blätter der beiden G. asclepiadea sind reichlich mit jungen Uredolagern bedeckt; sämtliche 10 Blätter von G. Regelii haben viele Uredolager; 3 Blätter von G. excisa zeigen zusammen 3 Uredolager.

2. Aug. Die G. cruciata zeigen zerstreute Uredolager; diese schwache Infektion ist wohl auf das Welken der Blätter zurückzuführen. G. asclepiadea, Regelii und excisa sind stark infiziert; eine G. Pneumonanthe besitzt einige Uredolager.

12. Aug. Die andere G. Pneumonanthe, G. Kesselringi und G. lutea sind verfault.

d) Versuche mit Uredosporen, die von Gentiana excisa stammten.

Das Infektionsmaterial sammelte ich in dem Garten des Herrn Bauer-Wyder in Münsingen bei Bern.

Versuch XVI.

Am 6. Juni wurden mit diesen Uredosporen bespritzt:

XVI. 1. Gentiana acaulis vom Versuch XII. 4
2. „ asclepiadea aus dem Kiental
3. „ Pneumonanthe von Froebel
4. „ septemfida „ „
5. „ Freyniana von Sündermann
6. „ Olivieri „ „
7. „ straminea „ „
8. „ Walujewi von Gusmus
9. „ verna „ „
10. „ bavarica von Froebel
11. „ pyrenaica von Sündermann
12. „ Kesselringi „ „
13. „ Przewalskii „ „

26. Juli. Alle 8 Blätter von G. acaulis und fast alle 32 Blätter der beiden G. asclepiadea sind reichlich mit Uredolagern bedeckt; von G. Pneumonanthe haben fast alle Blätter 2—3 Uredolager; 9 Lager treten auf 4 Blättern von G. Freyniana, ein Lager auf G. Walujewi und eines auf G. Kesselringi auf.

2. Aug. G. acaulis, asclepiadea, Pneumonanthe und Freyniana sind sehr stark infiziert; G. septemfida und G. bavarica weisen zerstreute Uredolager auf.

Versuch XVII.

8. Juli. Mit Uredosporen, die von G. excisa stammten, wurden bespritzt:

XVII. 1. Gentiana angustifolia von Sündermann
2. „ asclepiadea von Haage & Schmidt
3. „ Pneumonanthe von Froebel
4. „ Froelichii von Gusmus
5. „ siphonantha von Gusmus
6. „ Regelii von Sündermann
7. „ tibetica „ „
8. „ purpurea „ „
9. „ punctata vom Versuch VII. 6
10. „ lutea aus dem Kiental

26. Juli. G. Regelii zeigt an 6 Blättern viele Uredolager; je ein Lager findet sich auf G. Pneumonanthe und G. Froelichii; G. asclepiadea ist eingegangen.

2. Aug. G. Regelii ist reichlich, G. Pneumonanthe und G. Froelichii sind zerstreut mit Uredolagern bedeckt.

13. Aug. G. lutea und purpurea sind verfault.

Versuch XVIII.

Am 18. Juli wurden mit des vorigen Tages in Münsingen gesammeltem Uredosporenmaterial bespritzt:

XVIII. 1. Gentiana Pneumonanthe von Froebel
2. „ cruciata vom bot. Garten Bern
3. „ macrophylla von Sündermann
4. „ tibetica „ „
5. „ „ „ „
6. „ „ „ „
7. „ dahurica von Correvon
8. „ lutea von Sündermann
9. „ Burseri von Gusmus
10. „ Charpentieri von Gusmus
11. „ Thomasii „ „
12. „ pannopurpurea von Gusmus
13. „ imbricata „ „

2. Aug. Sehr stark mit Uredolagern bedeckt sind G. Charpentieri, Thomasii; zerstreute Lager weisen G. Pneumonanthe und G. imbricata auf; G. macrophylla hat 6 Uredolager auf einem Blatt und G. Burseri deren 8 auf 4 Blättern. Die alten Blätter von G. lutea und pannopurpurea sind eingegangen, so daß nur noch ganz junge vorhanden sind, welche schwerlich mit bespritzt sein dürften.

12. Aug. G. tibetica zeigt 3 Uredolager auf 2 Blättern; G. dahurica ist eingegangen.

Versuch XIX.

19. Juli. Mit Uredosporenmaterial von G. excisa wurden bespritzt:

XIX. 1.	Gentiana	firma	vom Versuch VIII
2.	„	verna	„ „ VIII
3.	„	bavarica	„ „ VIII
4.	„	Andrewsii	vom „ VIII
5.	„	decumbens	„ „ VIII
6.	„	brevidens	„ „ VIII
7.	„	„	„ „ XIV
8.	„	pannonica	von Sündermann
9.	„	excisa	„ „
10.	„	acaulis bosniaca	von Sündermann
11.	„	Clusii	„ „
12.	„	„	vom Versuch XIII
13.	„	purpurea	von Sündermann
14.	„	scabra	„ „
15.	„	straminea	von Correvon

26. Juli. G. acaulis bosniaca zeigt an einem Blatt 11 junge Uredolager.

2. Aug. G. Clusii XIX. 12 und G. acaulis bosniaca weisen viele Uredolager auf; G. Clusii XIX. 11 ist zerstreut mit Lagern bedeckt; G. pannonica besitzt 8 junge Uredolager auf 2 Blättern.

13. Aug. G. verna und bavarica sind verfault.

e) Versuche mit Uredosporen, die von Gentiana cruciata stammten.

Versuch XX.

5. Juli. Mit Uredosporen auf G. cruciata vom Versuch VII. 3 wurden bespritzt:

XX. 1.	Gentiana	cruciata	vom bot. Garten Bern
2.	„	Fetisowi	von Correvan
3.	„	Pneumonanthe	vom Selhofenmoos
4.	„	„	von Froebel
5.	„	septemfida	„ „
6.	„	acaulis	vom Versuch XII. 5
7.	„	bavarica	vom „ XIII
8.	„	pannonica	von Sündermann
9.	„	lutea	vom Versuch VII
10.	„	brevidens	vom Versuch XIII.

20. Juli. G. acaulis hat an 3 Blättern eine große Anzahl Uredolager.

26. Juli. Alle 4 Blätter von G. pannonica weisen reichlich Uredolager auf; G. cruciata, Pneumonanthe, bavarica und acaulis sind stark infiziert. G. lutea hat 3 Lager auf 2 Blättern.

2. Aug. G. cruciata, Pneumonanthe, bavarica, acaulis und pannonica sind sehr reichlich mit Uredolagern bedeckt; G. septemfida zeigt zerstreute Lager. G. lutea besitzt auf 3 Blättern zusammen 10 Uredolager.

13. Aug. Die 4 älteren Blätter von G. lutea sind stark infiziert. Leider ist diese Pflanze noch zu jung, um verifiziert werden zu können; da aber bei sämtlichen anderen mit P. Gentianae angestellten Versuchen G. lutea niemals infiziert wurde, so möchte ich annehmen, daß beim Pikieren der jungen Gentianen durch den Gärtner eine Verwechslung mit einer G. punctata geschehen sei.

Versuch XXI.

9. Juli. Mit Uredosporen auf G. cruciata, welche ich im Kiental sammelte, wurden bespritzt:

XXI. 1.	Gentiana	cruciata	aus dem Kiental
2.—6.	„	„	vom bot. Garten Bern
7.	„	asclepiadea	aus dem Kiental
8.	„	Pneumonanthe	von Froebel.

26. Juli. G. cruciata XXI. 1—5 sind reichlich mit Uredolagern bedeckt. G. cruciata XXI. 6 dagegen zeigt nur wenige, zerstreute Lager; es ist dies eine welke Pflanze. G. asclepiadea hat 9 Uredolager auf 3 Blättern. G. Pneumonanthe welkt.

13. Aug. G. Pneumonanthe geht ein. G. cruciata XXI. 6 ist gekräftigt und weist zahlreiche Uredolager auf.

Ich hatte diesen Versuch angestellt, um Infektionsmaterial für später zu gewinnen; und ich führe ihn hauptsächlich deswegen hier auf, weil sich bei ihm deutlich zeigt, welchen Einfluß die augenblickliche Beschaffenheit der Pflanze auf die Infektion offenbar hat. G. cruciata 1—5 sind kräftige Pflanzen und werden gleichmäßig stark infiziert; G. cruciata 6 und G. Pneumonanthe sind welk und lassen die Blätter hängen, sie werden anfangs nur wenig oder gar nicht befallen. G. asclepiadea, die sich noch nicht recht von dem Transport aus dem Kiental erholt hat, zeigt ebenfalls nur eine geringe Infektion. Die Richtigkeit dieser Beobachtung fand ich auch dadurch bestätigt, daß nur selten die Pflanzen, welche während der Dauer einer Infektionsmöglichkeit schlaff wurden, infiziert worden waren.

Versuch XXII.

Am 12. August wurden mit Uredosporen, welche von G. cruciata von dem Versuch XXI, 1—5 stammten, bespritzt:

XXII. 1.	Gentiana	cruciata	vom	Versuch	XVIII
2.	„	tibetica	„	„	XVIII
3.	„	„	„	„	XIX
4.	„	„	„	„	XV
5.	„	siphonantha	„	„	XIX
6.	„	straminea	„	„	XIX
7.	„	Olivieri	„	„	XIX
8.	„	Fetisowi	„	„	XX
9.	„	Andrewsii	„	„	XIX
10.	„	angustifolia	„	„	XIX
11.	„	„	„	„	XV
12.	„	alpina	„	„	XV
13.	„	pyrenaica	„	„	XIX
14.	„	pannopurpurea	„	„	XVIII
15.	„	Przewalskii	„	„	XIX
16.	„	„	„	„	XV
17.	„	brevidens	„	„	XIX
18.	„	„	„	„	XIX
19.	„	„	„	„	XX

30. Aug. Einige Blätter von G. cruciata und die meisten Blätter von G. tibetica XXII. 4 sind reichlich mit Uredolagern bedeckt; G. tibetica XXII. 2 und G. Przewalskii XXII. 15 zeigen jedes ein Uredolager auf einem Blatt.

Die Infektionsergebnisse lassen sich in folgender Tabelle zusammenfassen:

Sektion	Gentiana	Teleutosporen von			Aecidiosporen von		Uredosporen von		In Sydow, Monogr., als Nährpflanze angegeben
		acaulis	excisa	cruciata	excisa	cruciata	excisa	cruciata	
I.	lutea L.		—	—		—	—	?	
	Burseri Lapeyr.						+		
	punctata L.		+	+	+	—	+		
	purpurea L.		+	+			—		
	pannonica Scop.						+	+	
	Charpentieri Thom. (= lutea × punctata)						+		
	Thomasii Hall. (= purpurea × lutea)						+		
	pannopurpurea Gusm. (= pannonica × purpurea)						—	—	
II.	Andrewsii Griseb.		—				—	—	+
	septemfida Pall.						+	+	
	asclepiadea L.		+	+		+	+	+	+
	Pneumonanthe L.		+	+		+	+	+	+
	scabra Bge.		+				—		
	Freyniana Bornem.						+		
V.	Froelichii Jan.						+		
VI.	Regelii Kusnez.					+	+		
	Walujewi Rgl.						+		+
	siphonantha Maxim.						—	—	
	dahurica Fisch.						—		
	tibetica King.					—	+	+	
	straminea Maxim.						—	—	
	Fetisowi Rgl. u. Winkl.							—	
	macrophylla Pall.						+		+
	Olivieri Griseb.						—	—	
	cruciata L.		+	+	+	+	+	+	+
	decumbens L.		—	+			—		
VIII.	pyrenaica L.						—	—	
IX.	acaulis L.		+	+			+	+	+
	acaulis bosniaca						+		
	excisa Presl.	+	+	+		+	—		+
	Clusii Perr. u. Song.		+	+			+		
	firma Kern.		—	+		—	—		+
	angustifolia Vill.					—	—	—	
	alpina Vill.					—		—	
X.	verna L.		—				—		
	bavarica L.		—	—			+	+	
	imbricata Froel.						+		+
	pumila Jacq.					—			
?	brevidens Frank. u. Sav.		—	—			—	—	
?	Kesselringi Rgl.					—	+		
?	Przewalskii Maxim.					—	—	+	

Ein positives Infektionsresultat ist durch ein Kreuz + bezeichnet. Ein Strich — soll ausdrücken, daß die Pflanze in meinen Versuchen nicht von dem betreffenden Materiale infiziert wurde, was aber nicht ausschließt, daß sie unter günstigeren Bedingungen von demselben Materiale befallen werde (vgl. p. 578).

Einheitlichkeit der Puccinia Gentianae.

Als Resultat meiner Versuche tritt also zu Tage, daß eine Spezialisation von Puccinia Gentianae, soweit meine Experimente reichen, nicht vorliegt.

Da die morphologische Untersuchung einen, wenn auch nur geringen Unterschied in der Form der Teleutosporen auf G. Pneumonanthe von denen auf G. cruciata, excisa, acaulis, heterosepala und acuta ergab, so war vor allem zu untersuchen, ob Sporenmaterial, das von G. cruciata und G. excisa stammte, G. Pneumonanthe zu infizieren vermöge. Beides war der Fall: G. Pneumonanthe wurde leicht durch Teleuto-, Aecidio- und Uredosporen von G. cruciata und durch Teleuto- und Uredosporen von G. excisa infiziert. An dem Auftreten der P. Gentianae auf G. Pneumonanthe ist nicht zu zweifeln. Die Möglichkeit, daß außer der P. Gentianae sich eine Brachypuccinia auf G. Pneumonanthe vorfände, welche dann die Mißbildungen des Stengels hervorrufen würde, ist natürlich nicht ausgeschlossen. Aber immerhin ist nach meinen Versuchen eine derartige Annahme unwahrscheinlich, und bis auf weiteres wird daher auch der Pilz auf G. Pneumonanthe mit demjenigen auf den anderen untersuchten Gentiana-Arten zu identifizieren sein. Leider stand kein Sporenmaterial von G. Pneumonanthe zwecks Anstellung umgekehrter Versuche zur Verfügung; an den mir erreichbaren Standorten waren alle Nachforschungen resultatlos.

Beziehung zwischen systematischer Gruppierung und Infizierbarkeit der Gentiana-Arten.

Die Versuchspflanzen verteilen sich nach der Bearbeitung der Gattung Gentiana von Kusnezow in Engler und Prantls Natürlichen Pflanzenfamilien (IV. Teil, 2. Abt.) auf mehrere Sektionen der Untergattung Eugentiana; und zwar auf die Sektionen I (vom Typus der G. lutea), II (vom Typus der G. Pneumonanthe), V (vom Typus der G. Froelichii), VI (vom Typus der G. cruciata), VIII (vom Typus der G. pyrenaica), IX (vom Typus der G. acaulis), X (vom Typus der G. verna). Die Zugehörigkeit von G. brevidens, Kesselringi und Przewalskii war nicht festzustellen, da sie in jener Zusammenstellung nicht figurieren. G. heterosepala und G. acuta gehören in die zweite Untergattung Gentianella, und zwar in die Sektion XVI (vom Typus der G. Amarella).

Es ist nun eine merkwürdige Erscheinung, daß, obwohl G. acaulis s. str., excisa, Clusii und firma im allgemeinen leicht infiziert werden, doch G. angustifolia und alpina, welche ja, wie erstere, ebenfalls nur Subspecies von G. acaulis sind, durchaus sich nicht infizieren lassen. Dieser gänzliche Mangel an Beziehung zwischen Gruppierung der Gentianen und ihrer Infizierbarkeit tritt auch bei den anderen Sektionen hervor. In Sektion I werden alle mir zur Verfügung stehenden Pflanzen befallen, mit alleiniger Ausnahme von G. lutea. In den Sektionen der G. cruciata und G. verna verteilen sich die infizierbaren und die immunen Pflanzen ziemlich gleichmäßig. Selbstverständlich kann manches Ausbleiben einer Infektion auch auf eine individuelle Prädisposition zurückzuführen sein (vgl. p. 578).

Immunität von Gentiana-Arten bei den Versuchen.

Wenn auch eine Spezialisation von Puccinia Gentianae nicht nachzuweisen war, so konnten doch andererseits nicht alle zur Verfügung stehenden Gentiana-Arten infiziert werden. Es verhielten sich bei den Versuchen immun: G. lutea, pannopurpurea, Andrewsii,

siphonantha, dahurica, straminea, Fetisowi, Olivieri, pyrenaica, angustifolia, alpina, verna, pumila, brevidens.

G. lutea ist wohl als nicht infizierbar anzusehen; was die fragliche Infektion in Versuch XX anbetrifft, so habe ich schon oben darauf hingewiesen, daß die betreffende Pflanze wahrscheinlich eine G. punctata ist. Die Bastarde von G. lutea mit G. purpurea und punctata wurden allerdings vom Pilz befallen; doch ist dies wohl auf eine Vererbung der leichten Infizierbarkeit von G. purpurea und punctata zurückzuführen. Daß G. pannopurpurea nicht befallen wurde, während doch die Mutterpflanzen dieses Bastardes infiziert werden, ist wohl darauf zurückzuführen, daß beim ersten Versuch die bespritzten Blätter abfaulten, ehe der Pilz Gelegenheit haben konnte, Uredolager zu bilden; daß beim zweiten Versuch aber die Blätter, welche inzwischen nachgewachsen waren, noch in zu großer Jugend sich befanden. Auffällig ist, daß G. Andrewsii, die anscheinend richtig bestimmt ist, nicht infiziert wurde, während sie in Sydows Monographie der Gattung Puccinia[1]) als Nährpflanze angegeben ist; allerdings hatte die Pflanze, ohne gerade welk zu sein, nie ein frisches Aussehen. Da G. brevidens bei verschiedenen Versuchen nicht befallen wurde, so ist sie jedenfalls als immun zu betrachten.

Was die übrigen nicht infizierten Gentiana-Arten anbetrifft, so wurden sie bei einer zu geringen Zahl von Versuchen benutzt, als daß ein endgültiges Urteil über ihre Infizierbarkeit abgegeben werden könnte. Als Erklärung für ihre Immunität könnten sowohl der augenblickliche Zustand der Pflanzen, und zwar besonders infolge des Unterschiedes der Standortsverhältnisse im Freien von den in den Versuchszellen herrschenden Bedingungen, als auch eine individuelle Prädisposition herangezogen werden. Wie sehr jedenfalls der Erfolg eines Versuches von äußeren, gänzlich unkontrollierbaren Umständen abhängt, ergibt sich daraus, daß z. B. ein Exemplar von G. firma leicht infiziert wurde, während zwei andere, ebenfalls von Sündermann stammende, und eine vierte Pflanze, die von Gusmus bezogen war, bei zusammen 4 Versuchen sich als immun erwiesen; ähnliches war bei G. decumbens, bavarica, scabra und Przewalskii der Fall. G. excisa wurde bei mehreren Versuchen, bei denen das Infektionsmaterial von G. excisa stammte, nicht infiziert, während andere Pflanzen derselben Versuche befallen wurden.

Beziehung zwischen Beobachtungen im Freien und den Versuchsresultaten.

Es stehen einige Ergebnisse der Versuche in einem merkwürdigen Gegensatz zu im Freien gemachten Erfahrungen. So möchte ich darauf hinweisen, daß auf einem Teil der Tschingelwiese im Kiental, welche am 7. Juli 1907 eine reiche Ausbeute an infizierten G. cruciata ergab, zwischen diesen infizierten Pflanzen eine Anzahl G. asclepiadea stand, welche nicht die geringste Spur einer Infektion aufwiesen; Herr Dr. W. Rytz konnte die Richtigkeit dieser Beobachtung im Oktober 1907 vollauf bestätigen. Es stehen dieser anscheinenden Immunität von G. asclepiadea meine Versuche gegenüber, welche stets auf dieser Pflanze eine häufig sogar sehr reichliche Infektion ergaben.

1) p. 341.

Ich möchte ferner hervorheben, daß, obwohl G. punctata, purpurea und bavarica bisher im Freien niemals infiziert gefunden sind, dieselben doch in den meisten Versuchen leicht befallen wurden. Da jedoch diese Pflanzen vorzüglich auf Alpenweiden vorkommen, so ist eine Erklärung für das Fehlen des Pilzes im Freien vielleicht in dem Abmähen sowie in dem Weidegang zu suchen, zwei Faktoren, auf deren Bedeutung für die Entwickelung einer Uredineenflora schon mehrere Forscher hingewiesen haben[1]). Andererseits könnten auch die veränderten Bedingungen, welche die an verhältnismäßig trockene Standorte gewöhnten Pflanzen in den warmen und feuchten Versuchszellen fanden, von Einfluß auf die Infektionsmöglichkeit gewesen sein.

Bei den anderen neu als infizierbar festgestellten Pflanzen, nämlich G. Burseri, Charpentieri, Clusii, decumbens, Freyniana, Froelichii, Kesselringi, pannonica, Przewalskii, Regelii, scabra, septemfida, Thomasii und tibetica, möchte ich, da sie wohl noch nicht so häufig wie G. purpurea, punctata und bavarica im Freien auf Uredineen hin untersucht wurden, ein Uebersehen des Pilzes annehmen.

Die Aecidiengeneration von Puccinia Gentianae.

Sydow bemerkt in seiner Monographie der Gattung Puccinia, daß er die Aecidiengeneration von P. Gentianae für eine fakultative hielte. Ich möchte aber darauf hinweisen, daß bei meinen Versuchen, wenn bei ursprünglich durch Teleutosporen hervorgerufener Infektion Uredolager auftraten, mit 3 Ausnahmen (s. Versuch VII. 3, X. 2, XII. 1) vorher stets Aecidien vorhanden waren. Ich bin jedoch geneigt, bei G. asclepiadea von Versuch X. 2 und bei G. cruciata von Versuch XII. 1 eine Fremdinfektion anzunehmen, die leicht durch das Vorhandensein der mit Aecidien und Uredolagern bedeckten Pflanzen des Versuches XI, der sich mit den Versuchen X und XII in derselben Zelle befand, sich erklären läßt. Auch bei G. cruciata von Versuch VII. 3 ziehe ich es vor, die Entstehung der Uredolager einer Fremdinfektion zuzuschreiben, da die Anzahl der zu derselben Zeit infolge der Teleutosporenbespritzung auftretenden Pykniden diejenige der Uredolager gewaltig überwog, und außerdem nach 5 Tagen sich, wie bei den anderen Pflanzen desselben Versuches, Aecidien bildeten.

Die Puccinia Gentianae Str. ist als eine einheitliche Eu-Puccinia anzusehen; ihre Nährpflanzen sind folgende Gentiana-Arten: acaulis, acaulis bosniaca, acuta, adscendens, adsurgens, Andrewsii, asclepiadea, bavarica, Burseri, Charpentieri, ciliata, Clusii, cruciata, decumbens, excisa, firma, Freyniana, Froelichii, gelida, heterosepala, imbricata, Kesselringi, Kurroo, macrophylla, oregana, pannonica, Parryi, phlogifolia, Pneumonanthe, Przewalskii, punctata, puberula, purpurea, quinqueflora, Regelii, scabra, septemfida, Thomasii, tibetica, utriculosa, Walujewi.

II. Uromyces Geranii (DC.) Winter.

Uromyces Geranii (DC.) Winter ist eine autoecische Eu-

1) Vgl. Ed. Fischer, Uredineen der Schweiz. p. XLIII.

Uromyces[1]), welche auf folgenden Geranium-Arten parasitiert[2]): aconitifolium L'Hér., columbinum L., dissectum L., maculatum L., molle L., nodosum L., palustre L., phaeum L., pratense L., pusillum L., pyrenaicum L., Robertianum L., rotundifolium L., ruthenicum Uechtr., sanguineum L., silvaticum L., simense Hochst. Von diesem Uromyces Geranii trennte Bubák[3]) die Form auf Geranium pyrenaicum als Uromyces Kabatianus auf Grund einiger morphologischer Verschiedenheiten ab. Ed. Fischer stellte dann auch die Form auf G. dissectum zu Urom. Kabatianus[4]).

Da noch keine experimentellen Untersuchungen über diese beiden Uromyces-Arten ausgeführt worden waren, so suchte ich mit Uredosporen von Urom. Geranii auf G. silvaticum, welche ich am 14. Juli 1907 bei Zwirggi in der Nähe von Meiringen im Berner Oberland sammelte, eine Anzahl Geranium-Arten zu infizieren.

Die Versuchspflanzen waren folgende Geranium-Arten und stammten aus folgenden botanischen Gärten:

Sicherheit der Bestimmung:	Geranium:			Bezugsort:
*	albanum Bieb.	Samen	aus	La Mortola
*	anemonaefolium L'Hérit.	„	„	Zürich
*	argenteum L.	„	„	Straßburg
	armenum Boiss.	„	„	Genf
*	columbinum L.	„	„	?
*	cristatum Stev.	„	„	Genf
*	dissectum L.	„	„	Zürich
	divaricatum Ehrb.	„	„	Genf
	Endressi Gay	„	„	„
	gracile	„	„	„
	ibericum Cav.	„	„	Antwerpen
	incisum Nutt.	„	„	Darmstadt
	lancastriense Mill.	„	„	Genf
*	lucidum L.	„	„	„
	molle L.	„	„	Zürich
*	nodosum L.	„	„	Antwerpen, Genf
	palustre L.	„	„	„
	phaeum L.	„	„	Genf
	pratense L.	„	„	„
	„ fl. albo	„	„	Antwerpen
*	prostratum Cav.	„	„	Genf
*	pusillum Burm.	„	„	Zürich
*	pyrenaicum Burm.	„	„	Lyon
*	„ album	„	„	Genf
	rivulare Vill.	„	„	Marburg
*	Robertianum L.	„	„	Stockholm
*	„ album	„	„	Genf
*	rotundifolium L.	„	„	Marburg, Antwerpen
*	sanguineum L.	„	„	„ Genf, München
*	silvaticum L.	Pflanzen	„	Kiental im Berner Oberland, bot. Garten Bern
*	„	Samen	„	Genf
	villosum Andr.	„	„	„
	Wilfordii	„	„	„

Die mit * bezeichneten Pflanzen konnten verifiziert werden.

1) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. 16.
2) Saccardo, Sylloge Fungorum. Vol. XIII. 1897.
3) Einige neue oder kritische Uromyces-Arten. (Sitzungsber. der königl. böhm. Gesellschaft der Wissenschaften zu Prag. 1902.)
4) l. c. p. 18.

Versuch I.

Von Ger. silvaticum stammende Uredosporen des Urom. Geranii wurden am 15. Juli 1907 verstäubt auf:

I. 1.	Geranium	silvaticum aus dem Kiental im Berner Oberland
2. 3.	„	albanum Bieb.
4.	„	anemonaefolium L'Hérit.
5.	„	argenteum L.
6.	„	armenum Boiss.
7. 8.	„	columbinum L.
9. 10.	„	cristatum Stev.
11. 12.	„	dissectum L.
13. 14.	„	divaricatum Ehrb.
15. 16.	„	Endressi Gay
17.	„	gracile
18.	„	ibericum Cav.
19. 20.	„	incisum Nutt.
21.	„	lancastriense Mill.
22. 23.	„	lucidum L.
24. 25.	„	molle L.
26.	„	nodosum L. (Samen aus Antwerpen)
27.	„	„ („ „ Genf)
28.	„	palustre L.
29.	„	phaeum L.
30. 31.	„	pratense L.
32.	„	„ fl. albo
33.	„	prostratum Cav.
34. 35.	„	pusillum Burm.
36. 37.	„	pyrenaicum album
38. 39.	„	rivulare Vill.
40. 41.	„	Robertianum L.
42. 43.	„	rotundifolium L.
44.	„	sanguineum L. (Samen aus Marburg)
45.	„	„ („ „ München)
46. 47.	„	Villosum Andr.
48.	„	Wilfordii

26. Juli. Alle 3 Blätter von Ger. silvaticum (1), 2 Blätter von G. pratense (30), alle Blätter von G. incisum (20), die meisten Blätter von G. dissectum (11) weisen zahlreiche Uredolager auf; einige Blätter von G. rotundifolium (43) und die meisten Blätter von G. albanum und G. rotundifolium (42) besitzen zerstreute Lager; G. divaricatum (13) ist eingegangen.

29. Juli. Einige Blätter von G. cristatum haben viele Sporenlager; an einigen Blättern von G. pratense fl. albo, phaeum, sanguineum, pusillum (34) und columbinum (7) und an vielen Blättern von G. dissectum (12) sind zerstreute Lager zu bemerken.

2. Aug. Zerstreute Uredolager sind festzustellen auf G. palustre, incisum (19), Endressi (16), pratense (31), rivulare (38).

12. Aug. G. argenteum ist eingegangen. Die nicht infizierten Pflanzen werden mit einigen Ausnahmen zu Versuch VI verwendet.

Versuch II.

Am 15. Juli wurden mit Uredosporen auf G. silvaticum bespritzt:

II. 1.	Geranium	silvaticum aus dem Kiental
2. 3. 4.	„	pyrenaicum album
5. 6.	„	„
7. 8. 9.	„	dissectum

26. Juli. Alle Blätter von G. silvaticum sind stark mit Uredo bedeckt; einige Blätter von G. dissectum (7) und (8) zeigen zerstreute Uredolager.

27. Juli. Viele Blätter von G. dissectum (7. 8. 9.) weisen zahlreiche Uredolager auf.

12. Aug. Die Pflanzen verhalten sich wie am 29. Juli. G. pyrenaicum wird zu Versuch VI verwendet.

30. Aug. G. pyrenaicum album besitzt auf den älteren Blättern viele Uredolager; diese Infektion ist jedenfalls durch die anderen Pflanzen des Versuches verursacht. Der Grund der Unempfänglichkeit im Juli ist vielleicht in der großen Jugend der Blätter zu suchen.

Versuch III.

16. Juli. Es wurden mit demselben Material bespritzt:

III. 1.	Geranium	silvaticum aus dem Kiental
2--5.	„	pyrenaicum album
6—8.	„	dissectum

26. Juli. Alle Blätter von G. silvaticum sind mit jungen Uredolagern bedeckt.

29. Juli. Viele Blätter von G. dissectum zeigen zahlreiche Lager.

2. Aug. Es hat sich nichts an der Infektion geändert.

30. Aug. An den älteren Blättern von G. pyrenaicum album sind viele Uredolager zu bemerken. Auch hier nehme ich eine Fremdinfektion durch die anderen Pflanzen des Versuches und als Grund des Ausbleibens der Infektion im Juli eine zu große Jugend der Blätter an.

Versuch IV.

Es wurden am 18. Juli mit Uredosporen von G. silvaticum bespritzt:

IV. 1.	Geranium	silvaticum aus dem Kiental
2.	„	albanum
3.	„	columbinum
4.	„	cristatum
5.	„	dissectum
6.	„	Endressi
7.	„	incisum
8.	„	lucidum
9.	„	pratense
10.	„	pyrenaicum album
11.	„	Robertianum album
12.	„	rotundifolium (Samen aus Marburg)
13.	„	sanguineum (Samen aus Genf)
14.	„	villosum

2. Aug. Alle Blätter von G. rotundifolium und dissectum und 2 Blätter von G. incisum sind stark infiziert; G. albanum, Endressi, cristatum, pratense, sanguineum weisen zerstreute Uredolager auf.

13. Aug. 1 Blatt von G. villosum besitzt 2 Lager; 2 Blätter von G. columbinum zeigen 5 Lager.

Versuch V.

18. Juli. Mit dem in Zwirggi gesammelten Uredosporenmaterial wurden ferner bespritzt:

V. 1. Geranium silvaticum (Samen aus Genf)
2. „ albanum
3. „ Endressi
4. „ dissectum
5. „ divaricatum
6. „ incisum
7. „ lucidum
8. „ pratense
9. „ pusillum
10. „ pyrenaicum album
11. „ rotundifolium (Samen aus Antwerpen)
12. „ villosum

Die Pflanzen wurden im Gewächshause bespritzt und nicht mit Glasglocken bedeckt.

2. Aug. G. silvaticum, albanum, dissectum, pratense, rotundifolium weisen zerstreute Uredolager auf; G. incisum besitzt zahlreiche Lager; G. divaricatum geht ein.

13. Aug. Es hat sich nichts an dem Infektionsergebnis geändert.

Am 16. Sept. kontrollierte Herr cand. phil. R. Probst, dem ich hierfür auch an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche, die Töpfe mit G. pyrenaicum album der Versuche V und VI. An 2 älteren Blättern von G. pyrenaicum album V. 10 stellte Herr Probst 3 Uredolager fest.

Versuch VI.

12. Aug. Mit Uredosporen, welche ich auf G. silvaticum von den Versuchen I—V sammelte, wurden bespritzt:

VI. 1. Geranium silvaticum aus dem bot. Garten Bern
2. „ anemonaefolium vom Versuch I
3. „ armenum vom Versuch I
4. 5. „ divaricatum
6. „ gracile vom Versuch I
7. „ ibericum vom Versuch I
8. „ lancastriense vom Versuch I
9. „ lucidum vom Versuch I
10. „ „
11. „ molle
12. 13. „ nodosum vom Versuch I
14. „ prostratum vom Versuch I
15. 16. „ pyrenaicum „ „ II
17. 18. „ „ album vom Versuch I
19. 20. „ Robertianum vom Versuch I
21. 22. „ villosum
23. „ Wilfordii vom Versnch I.

30. Aug. Alle Blätter von G. silvaticum sind mit zahlreichen Uredolagern bedeckt; G. pyrenaicum (15) besitzt 12 Lager an 2 Blättern, und G. pyrenaicum album (17) weist an 2 älteren Blättern zusammen 12 Sporenlager auf.

16. Sept. Die Infektion von G. pyrenaicum album (17) ist dieselbe geblieben. G. pyrenaicum album (18) zeigt an allen älteren Blättern eine regelmäßige Infektion; von den jüngeren Blättern sind nur 2 befallen mit zusammen 5 Uredolagern; die infizierten Blattteile sterben ab.

In meinen Versuchen wurden also mit Uredosporen, die von G. silvaticum stammten, folgende Geranium-Arten erfolgreich infiziert: albanum, columbinum, cristatum, dissectum, Endressi, incisum, palustre, phaeum, pratense, pusillum, pyrenai-

cum, rivulare, rotundifolium, sanguineum, silvaticum, villosum. Dagegen war das Ergebnis negativ auf: G. anemonaefolium, argenteum, armenum, divaricatum, gracile, ibericum, lancastriense, lucidum, molle, nodosum, prostratum, Robertianum, Wilfordii. Nicht geprüft wurde das Verhalten von G. aconitifolium, maculatum, ruthenicum und simense, welche Saccardo als Nährpflanzen angibt.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, daß eine Spezialisation von Uromyces Geranii nicht sehr weitgehend ist. Daß sie ganz fehle, kann aber nicht gesagt werden; da G. Robertianum, molle und nodosum, die Saccardo als Wirte angibt, in meinen Versuchen nicht infiziert wurden, so scheinen sie eine andere biologische Art zu beherbergen.

Auffällig ist aber das Verhalten von G. pyrenaicum. Nachdem Bubák, gestützt auf kleine, aber markante morphologische Unterschiede, die auf dieser Nährpflanze lebende Uromyces-Art als besondere Species abgetrennt hat, wäre auf G. pyrenaicum ein negatives Ergebnis zu erwarten gewesen; statt dessen war der Erfolg der Infektionsversuche auf dieser Pflanze ein positiver. Daß wirklich G. pyrenaicum vorlag, kann nicht bezweifelt werden; meine Versuchspflanzen haben zwar nicht geblüht, aber eine sorgfältige Verifikation der vegetativen Teile ergab mit Sicherheit G. pyrenaicum.

Dank der Freundlichkeit des Herrn Bubák konnte ich seine Originalexemplare mit den in meinen Versuchen auf G. pyrenaicum gewonnenen Teleutosporen vergleichen und fand in der Tat die Unterschiede, welche Bubák zur Abtrennung von Uromyces Kabatianus führten (nämlich: eine meist kreisförmige Anordnung der Lager, meist längliche Teleutosporen, eine im allgemeinen stärker vorgewölbte Papille und eine dünnere Membran der Teleutosporen), so ausgeprägt, daß offenbar auf G. pyrenaicum zwei Uromyces-Arten vorkommen, Uromyces Geranii und Uromyces Kabatianus. Geranium pyrenaicum wäre dann ein Sammelwirt. Analoga finden sich ja auch bei anderen Pflanzen; ich erinnere nur an Centaurea Jacea, auf der Jacky[1]) zwei morphologisch verschiedene, in ihren biologischen Verhältnissen aber übereinstimmende Puccinia-Formen der Puccinia Centaureae vorgefunden hat, sowie an Cirsium heterophyllum und C. spinosissimum[2]), auf denen die Aecidien sowohl von Puccinia dioica als auch von Puccinia Caricis-frigidae vorkommen, zwei Puccinia-Arten, die morphologisch sich kaum unterscheiden lassen.

Was die Uromyces-Art anbetrifft, welche auf G. Robertianum, molle und nodosum gefunden wurde, welche Pflanzen bei meinen Versuchen von Uromyces Geranii nicht infiziert wurden, so kann ich nur bemerken, daß von G. nodosum stammendes Sporenmaterial weder in Form noch Größe der Sporen von Uromyces Geranii zu unterscheiden war.

III. Puccinia Violae (Schum.) DC.

Eine bisher experimentell nur wenig geprüfte Uredinee ist Puccinia Violae (Schum.) DC. Diese autoecische Eu-Puccinia parasitiert auf

1) Jacky, E., Die Kompositen-bewohnenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii und deren Spezialisierung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. p. 193, 263, 330.)

2) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. 283 und p. 285.

einer großen Anzahl von Viola-Arten[1]). Nach Vize[2]) und Sydow[3]) ist infolge morphologischer Unterschiede besonders in der Aecidiengeneration von dieser Puccinia Violae eine Puccinia depauperans (Vize) Syd. abzutrennen, welche nach Sydow auf Viola cornuta, lutea und tricolor vorkommt. Sydow gibt als Unterschiede der Puccinia depauperans von P. Violae folgendes an: „Die Aecidien dieser Art treten hauptsächlich an den Stengeln und Blattstielen der Nährpflanzen auf; sie bilden keine Gruppen, sondern stehen zu einzelnen beisammen auf den befallenen Pflanzenteilen. Man findet oft noch im Spätsommer die Aecidien mit den Teleutosporen zusammen auftretend, was bei Puccina Violae nie der Fall ist. Das Mycel des Aecidiums ist perennierend. Die vom Pilze befallenen Pflanzen werden deformiert; ihre Farbe ist bleicher als die der gesunden Pflanzen, die Stengelglieder und Blattstiele sind verlängert und etwas verdickt.“

Jacky[4]) führte zwei Versuche mit Sporen von Viola silvatica aus, die er auf V. odorata und V. variegata zerstäubte; ein positives Infektionsresultat war nicht festzustellen. Infolgedessen vermutete Jacky eine Spezialisation der P. Violae in verschiedene biologische Arten.

Um der Beantwortung der Frage nach einer solchen Auflösung der P. Violae in einzelne Arten näherzukommen, führte ich in den Sommermonaten der Jahre 1906 und 1907 eine Anzahl von Versuchen mit Sporenmaterial aus, das sowohl von V. silvatica und odorata als auch von V. lutea stammte.

Mit Aecidio- und Uredosporen, welche auf V. silvatica im Bremgartenwald bei Bern gesammelt wurden, angestellte Versuche ergaben aber auch auf V. silvatica so schwache Erfolge, daß die negativen Resultate auf anderen Arten nicht die geringste Beweiskraft besitzen; in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche wurde nicht einmal V. silvatica, geschweige denn eine andere Viola-Art, infiziert. Ich verzichte daher auf eine ins einzelne gehende Darstellung meiner Versuche, sondern zähle hier nur die positiven Ergebnisse auf. Diese bestanden im Auftreten vereinzelter Sporenlager auf den Blättern folgender Pflanzen: V. cornuta L., latisepala Wettst., lutea Huds., Munbyana Bss. u. Reut., palustris L., silvatica Fr., stagnina Kit. und tricolor L.[5]). Von diesen wurden V. silvatica, tricolor und stagnina bei je 3 Versuchen, die anderen Pflanzen bei je einem Versuch infiziert.

Mit Aecidiosporen von V. odorata wurde ein Versuch angestellt; bei demselben wurde nur V. tricolor erfolgreich infiziert, und zwar wurden 5 Uredolager festgestellt.

Am 22. Juli wurde sodann ein Versuch mit Aecidiosporen, welche auf V. lutea auf der Frohmattalp im Berner Oberland gesammelt waren, ausgeführt. Am 13. August wiesen V. lutea, silvatica und canina[5]) zerstreute Uredolager auf, wohingegen V. calcarata, cornuta und tricolor sehr reichlich infiziert waren.

Auf was die spärlichen Resultate zurückzuführen sind, ist schwer

1) Sydow, P. et H., Monographia Uredinearum. Vol. I. p. 441.
2) Gard. Chron. 1876. p. 175, 361, 437.
3) Sydow, l. c. p. 442.
4) Jacky, Ernst, Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. p. 90.)
5) Mit Ausnahme von V. latisepala, Munbyana und canina konnte ich diese Pflanzen mit Sicherheit als richtig bezeichnet feststellen.

zu sagen; vielleicht verträgt der Pilz die Kultur im Gewächshause nicht gut. Jedenfalls sind die negativen Ergebnisse meiner Versuche nicht im geringsten zu berücksichtigen. Und ebenso möchte ich den negativen Verlauf der Versuche von Jacky auf mißgünstige Kulturbedingungen zurückführen.

Aus den positiven Ergebnissen lassen sich aber einige Schlüsse ziehen. V. lutea und cornuta zeigen bei Infektionsversuchen mit Aecidiosporen von V. silvatica Uredolager; V. tricolor erhält Sporenlager durch Bespritzen mit Sporen, die von V. silvatica und odorata stammen; der auf V. lutea parasitierende Pilz befällt Nährpflanzen von P. Violae, nämlich V. calcarata, canina und silvatica. P. Violae geht somit auf Arten ziemlich entfernter Verwandtschaft, insbesondere geht P. Violae von V. silvatica auf die für P. depauperans angegebenen Wirte V. lutea, cornuta und tricolor, und umgekehrt der von V. lutea stammende Pilz auf V. silvatica.

Dank der Freundlichkeit des Herrn Sydow konnte ich Originalexemplare von P. depauperans auf kultivierten V. tricolor mit dem in den Schweizeralpen gesammelten Pilz auf V. lutea, wie ich ihn zu meinen Versuchen verwendete, vergleichen. Ich konnte nun feststellen, daß die charakteristischen Eigenschaften der P. depauperans besonders im äußeren Habitus, wie Sydow sie angibt und die Originalexemplare sie deutlich zeigen, bei dem in meinen Versuchen gebrauchten Pilz auf V. lutea nicht im geringsten vorhanden waren. Sydow nimmt für P. depauperans ein Perennieren des Mycels an; und in der Tat erhält man beim Betrachten der mit Aecidien von P. depauperans stark und gleichmäßig besetzten Blätter und Stengel den Eindruck, als ob das Mycel ganze Vegetationssprosse durchzöge. Dies trifft nun für den von mir benutzten Pilz auf V. lutea nicht zu, vielmehr zeigen sich die Aecidien in zusammengedrängten, kleinen Gruppen meist auf etwas vorgewölbten Teilen der Blätter, seltener an dem Stengel, wie dies auch bei den sonst von mir beobachteten Aecidien von P. Violae der Fall war. Ein, wenn auch nicht ganz beweiskräftiger Versuch scheint zu bestätigen, daß bei meinem Pilze ein Perennieren des Mycels nicht vorhanden ist. Ich isolierte nämlich am 15. Juli 1906 3 Töpfe mit reichlich mit Aecidien behafteten Viola lutea (auf der Frohmattalp im Berner Oberland ausgegraben); Ende Juli zeigten sich einzelne Uredolager, Mitte Oktober wenige Teleutosporenlager; im Frühling und Sommer 1907 war an keiner der Pflanzen eine Infektion zu bemerken. Es ist also anzunehmen, daß der von mir zu meinen Versuchen gebrauchte Pilz auf V. lutea mit P. Violae identisch ist, da er sowohl morphologisch als auch biologisch mit P. Violae übereinstimmt.

Es scheinen demnach V. lutea, tricolor und cornuta Sammelwirte zu sein und auf ihnen zwei Puccinien vorzukommen: einerseits P. depauperans, andererseits P. Violae, wie dies Sydow für V. cornuta ja auch schon annahm.

IV. Puccinia alpina Fuckel.

Puccinia alpina Fuckel ist eine autoecische Mikro-Puccinia[1]), welche auf Viola biflora parasitiert. Am 15. Juli 1906 sammelte ich in der Nähe des Seebergsees im Berner Oberland mit Puccinia alpina infizierte V. biflora. Da keine experimentellen Untersuchungen

1) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. 141.

über weitere Nährpflanzen des Pilzes angestellt worden sind, versuchte ich mit meinem Material andere Viola-Arten zu infizieren. Ich pflanzte am 18. Juli 1906 in einen Holzkasten:

1. 2. Viola biflora, bei Mürren im Berner Oberland ausgegraben
3. 4. „ silvatica, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben
5. „ lutea, bei Mürren im Berner Oberland ausgegraben
6. „ „ auf der Frohmattalp im Berner Oberland ausgegraben
7. „ calcarata, auf dem Faulhorn im Berner Oberland ausgegraben
8. „ mirabilis[1])

Auf die Erde, besonders um die Stengel der Pflanzen, häufte ich die mit P. alpina besetzten Blätter von V. biflora und beschwerte sie mit Steinchen; das Kästchen wurde in eine abgelegene Ecke des botanischen Gartens gestellt.

Am 28. Mai 1907 sah ich die Pflanzen nach und fand folgendes Resultat: auf den 5 Blättern von V. biflora 2 sind eine Anzahl kräftiger P. alpina-Lager vorhanden; V. biflora 1 und V. lutea 5 sind eingegangen; an den anderen Pflanzen, die alle gut entwickelt sind, finden sich keine Lager vor.

Bis zum 11. Juli kontrollierte ich die Pflanzen, fand aber stets nur auf V. biflora, und dort sehr reichlich, Teleutolager von P. alpina.

Dann verwendete ich die nicht infizierten Pflanzen zu anderen Versuchen; bis zum 30. Aug. habe ich niemals Lager von P. alpina auf denselben bemerkt.

Es ist damit wohl bewiesen, daß Puccinia alpina Fuckel nicht auf Viola calcarata, lutea, mirabilis und silvatica übergeht.

V. Uredo alpestris Schröter.

Ein in den Voralpen sehr häufiger, auf Viola biflora parasitierender Pilz ist Uredo alpestris Schröter[2]). Der Entwickelungsgang dieses Pilzes ist ein vollkommen unbekannter; man fand bisher nur die ellipsoidischen Uredosporen in den orangeroten Uredolagern, welche sich stets an der Unterseite der Blätter befinden.

Am 14. September 1906 sammelte ich in der Nähe von Isenfluh im Berner Oberland eine große Anzahl von mit Uredo alpestris bedeckten Viola biflora-Blättern und überwinterte dieselben im Freien in einem Leinenbeutel, um im Frühjahr 1907 Infektions- und Keimungsversuche mit ihnen auszuführen.

a) Versuche mit überwinterten Uredosporen.

Versuch I.

Am 30. Mai 1907 bespritzte ich mit Uredosporen von Uredo alpestris: 2 Töpfe mit Viola biflora, die im vorigen Sommer bei Mürren im Berner Oberland ausgegraben waren.

27. Juni. Die meisten älteren Blätter der drei Pflanzen sind mit zahlreichen jungen Uredolagern besetzt, die gleichmäßig auf der Unterseite der Blätter verteilt sind.

4. Juli. Sämtliche Blätter der drei Pflanzen sind stark mit älteren Uredolagern bedeckt. Die neun, ebenfalls im Vorjahre bei Mürren ausgegrabenen Viola biflora, die als Kontrollpflanzen dienen, zeigen, nach

1) Ich hege Zweifel an der Richtigkeit der Bezeichnung dieser Pflanze.
2) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. 540.

sorgfältiger Untersuchung sämtlicher Blätter, nicht die geringste Infektion mit Uredo alpestris.

Versuch II.

Am 5. Juni wurden mit Uredo alpestris bespritzt:

II. 1. 2. Viola biflora von Mürren.

27. Juni. Es ist keine Infektion zu bemerken.

4. Juli. Fast alle Blätter zeigen zahlreiche junge und ältere Uredolager. Die Kontrollpflanzen sind nicht infiziert.

Versuch III.

Am 11. Juni wurden 2 Töpfe mit Viola biflora von Mürren mit Uredo alpestris bespritzt.

27. Juni und 4. Juli. Eine Infektion ist nicht festzustellen.

8. Juli. Einige Blätter zeigen junge Uredolager.

20. Juli. Alle älteren Blätter der beiden Pflanzen sind reichlich mit Uredo bedeckt. An den Kontrollpflanzen ist nichts zu bemerken.

Ein Fortschritt in der Erkenntnis des Entwickelungsganges von Uredo alpestris ist durch diese drei Versuche gemacht: die Ueberwinterung des Pilzes wird durch Uredosporen vermittelt. Ein Perennieren des Mycels ist nicht anzunehmen, da eine Deformation des Blattstieles niemals zu bemerken ist, auch die Lager stets nur an der Blattspreite zu finden sind. Es handelt sich nun darum, die Art der Ausbreitung des Pilzes im Sommer festzustellen.

b) Versuche mit Sporen, die im Sommer gesammelt wurden.

Versuch IV.

4. Juli. Mit Sporen, die auf Viola biflora vom Versuch I gesammelt sind, wurden bespritzt: 2 Töpfe von Viola biflora von Mürren.

20. Juli. Sämtliche Blätter der beiden Pflanzen sind außerordentlich reichlich mit jungen Uredolagern bedeckt.

Versuch V.

11. Juli. Mit Uredo alpestris vom Versuch II werden bespritzt: 2 Töpfe Viola biflora von Mürren.

24. Juli. Es ist nichts zu bemerken.

26. Juli. Alle Blätter beider Pflanzen zeigen zahlreiche junge Uredolager.

Versuch VI.

24. Juli. Mit vom Versuch IV stammenden Sporen (also mit der zweiten Sommergeneration) wurden bespritzt:

VI. 1. 2. Viola biflora von der Frohmattalp im Berner Oberland
3. 4. „ silvatica aus dem Bremgartenwald bei Bern.

12. Aug. An sämtlichen Blättern von Viola biflora treten außerordentlich viele junge Uredolager auf.

Bis zum 30. Aug. ist an V. silvatica nichts von einer Infektion festzustellen.

Versuch VII.

12. Aug. Mit Uredo alpestris vom Versuch VI wurde bespritzt: ein Topf mit Viola biflora von Mürren.

30. Aug. Alle Blätter der Pflanze zeigen eine starke Infektion. Diese Uredolager sind also die vierte Sommergeneration des Pilzes.

Durch diese Versuche wird bewiesen, daß die Verbreitung des Pilzes im Sommer ebenfalls durch die Uredosporen verursacht wird. Diese Sporen sind von den überwinterten nicht im geringsten zu unterscheiden; sie besitzen dieselbe Größe, Form und Farbe; auch die Sporenlager zeigen keine Verschiedenheiten. Die Uredolager treten etwa 2—3 Wochen nach der Infektion auf. Uredo alpestris scheint auf Viola silvatica nicht überzugehen.

c) Versuche zwecks Beobachtung der Keimung von Uredosporen.

Trotz aller Mühe gelang es mir nicht, auch nur für eine Spore von Uredo alpestris die Keimung zu sehen.

Es wurden bei der Anstellung jedes Versuches zwei Objektträger mit demselben sporenhaltigen Wasser bespritzt, das auch auf die Pflanzen verstäubt wurde. Diese Sporen beobachtete ich so lange, bis eine Infektion auf den betreffenden Pflanzen festgestellt war. Niemals war eine Keimung zu sehen; die Sporen nahmen nur allmählich an Farbe ab.

Am 8. Juli übertrug ich mit der Nadel Sporen aus Uredolagern in drei verschieden stark konzentrierte Abkochungen von gesunden Viola biflora-Blättern; bis zum 23. Juli zeigte sich keine Keimung. Derselbe Versuch wurde am 11. Juli mit Abkochungen von infizierten V. biflora-Blättern angestellt. Auch hier war weder in den konzentrierten, noch in den verschieden stark verdünnten Lösungen eine Keimung zu bemerken.

Am 1. Juli bespritzte ich die Unterseite von drei auf Objektträger gelegten, gesunden Blättern von V. biflora mit Uredosporen. Am 20. Juli wiederholte ich den Versuch mit sechs frischen Blättern, jedoch mit der Abänderung, daß drei auf der Unterseite und drei andere auf der Oberseite bespritzt wurden; je eines dieser Blätter wurde dann mit feuchtem Fließpapier abgetrocknet. Die Sporen waren deutlich zu erkennen; Keimschläuche anderer Pilzsporen waren gut sichtbar. Aber eine Keimung der Sporen von Uredo alpestris konnte ich nicht beobachten.

d) Die systematische Stellung von Uredo alpestris.

In Quer- und Längsschnitten von Blättern, die mit jungen Uredolagern bedeckt waren, aus den Versuchen I—III, war nichts zu bemerken, was auf das Vorhandensein von Teleutosporen hinweisen würde; hier und da schienen die jungen Sporen am Scheitel etwas verdickt zu sein. In Ergänzung der bisherigen Beschreibung der Uredo-

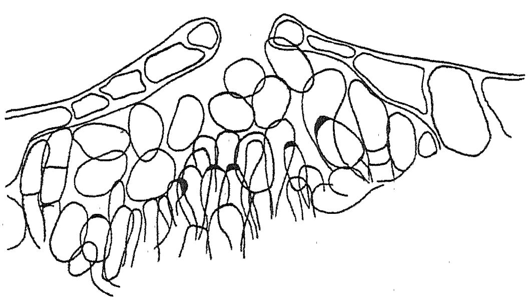


Fig. 1.

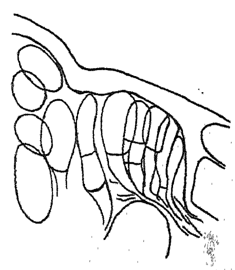


Fig. 2.

lager ist zu bemerken, daß dieselben an der Peripherie von Paraphysen umgeben sind (siehe Fig. 1 und 2).

Die Frage nach der systematischen Stellung von Uredo alpestris ist also vorläufig nicht zu beantworten.

VI. Puccinia obtusata Otth.

Im Jahre 1905 untersuchte W. Tranzschel[1]) die Biologie der Puccinia Isiacae (Thüm.) Winter und erhielt als Resultat seiner Kulturversuche eine Pleophagie dieses Pilzes in Bezug auf die Aecidiengeneration, wie sie nur von wenigen anderen Uredineen zu verzeichnen ist. Puccinia Isiacae ist eine Eu-Puccinia, welche ihre Uredo- und Teleutosporen auf Phragmites communis, ihre Aecidien aber auf Pflanzen folgender Familien bildet[2]): Cruciferae, Capparidaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Umbelliferae, Valerianaceae, Borraginaceae, Labiatae, Scrophulariaceae.

Dieser Puccinia Isiacae steht die Puccinia obtusata Otth. sehr nahe, welche ihre Uredo- und Teleutosporen ebenfalls auf Phragmites communis und ihre Aecidien auf Ligustrum vulgaris bildet[3]). Eine Vergleichung der Diagnose von P. obtusata[4]) mit der von P. Isiacae[5]) ergibt nur kleine Verschiedenheiten in der Ausbildung der Aecidio- und Uredosporen; erstere sind bei P. obtusata durchschnittlich etwas größer als bei P. Isiacae; letztere sind bei P. obtusata kugelig mit zwei seitlichen, einander ungefähr gegenüberliegenden Keimporen, bei P. Isiacae dagegen ellipsoidisch oder eiförmig, etwas größer und mit 4 wenig deutlichen Keimporen versehen. Tranzschel[6]) untersuchte die Teleutosporen beider Puccinien und konnte keinen Unterschied zwischen denselben feststellen.

Infolge dieser weitgehenden morphologischen Aehnlichkeit von P. obtusata und P. Isiacae stellte sich naturgemäß die Frage, ob nicht auch bei P. obtusata sich eine Pleophagie vorfände, wie Tranzschel sie für P. Isiacae nachgewiesen hat. Daraufhin stellte ich mit Teleutosporen von P. obtusa, welche Herr Prof. Dr. Ed. Fischer am 21. April 1907 in der Nähe der Hunzikerbrücke bei Bern gesammelt hatte und mir in liebenswürdiger Weise überließ, eine Anzahl von Infektionsexperimenten mit folgenden Pflanzen an:

I. Oleaceae:	1. Ligustrum ovalifolium Hassk.	(Heimat: Japan) in dem botan. Garten zu Bern
II. Cruciferae:	2. Lepidium Draba	Samen aus Montpellier
	3. L. campestre	„ „ Zürich
	4. Barbarea vulgaris	„ „ „
	5. Erysimum cheiranthoides	„ „ Tabor
III. Umbelliferae:	6. Anethum graveolens	„ „ „
IV. Valerianaceae:	7. Valerianella olitoria	„ „ Zürich
V. Labiatae:	8. Galeopsis Tetrahit	„ „ „
	9. Lamium purpureum	„ „ Tabor
VI. Scrophulariaceae:	10. Veronica arvensis	„ „ „

1) Tranzschel, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen. II. (Travaux du musée botanique de l'académie imperiale des sciences de St. Pétersbourg. T. III. 1906. p. 40.)

2) l. c. p. 45 und Botan. Ztg. 1907. No. 4.

3) Fischer, Ed., Uredineen der Schweiz. p. 255.

4) Fischer, Ed., l. c. p. 253.

5) Tranzschel, W., l. c. p. 47.

6) l. c. p. 41.

Es sind das, mit Ausnahme der ersten, sämtlich Pflanzen, auf die P. Isiacae übergeht.

Die aufgeweichten Phragmites-Halme wurden über den zu infizierenden Pflanzen angebracht und diese dann, mit Ausnahme von Ligustrum, durch innen mit feuchtem Fließpapier ausgekleidete Glasglocken bedeckt, welche nach drei Tagen wieder abgenommen wurden. Ligustrum ovalifolium stand im Freien; der betreffende Zweig wurde, nachdem Teleutolager auf seine Blätter gelegt waren, mit feuchtem Fließpapier eingehüllt, das dann durch Gaze befestigt wurde; nach drei bis vier Tagen, während derer das Fließpapier täglich je nach den Witterungsverhältnissen mehr oder weniger stark bespritzt wurde, befreite ich den Zweig von Gaze und Papier. Zu gleicher Zeit mit der Ausführung des Versuches legte ich einen der Halme auf einen Objektträger; dieser war tags darauf stets sehr reichlich mit abgeworfenen Basidiosporen bedeckt, die alsbald keimten.

Versuch I.

Dieser Versuch wurde am 1. Mai 1907 mit den Pflanzen 2—10 (also mit Ausnahme von Ligustrum) eingeleitet. Bis zum 28. Mai war keine Infektion bemerkbar.

Versuch II.

Am 29. Mai suchte ich außer noch nicht zu Versuchen verwendeten Pflanzen 2—10 auch Ligustrum ovalifolium zu infizieren.

15. Juni. Die meisten Blätter des infizierten Zweiges von Ligustrum ovalifolium zeigen Pykniden.

25. Juni. Diese Blätter fallen ab, ohne daß Aecidien gebildet wären.

Bis zum 4. Juli sind die anderen Pflanzen nicht infiziert worden.

Versuch III.

31. Mai. Es wurden dieselben Arten wie beim Versuch II verwendet.

15. Juni. Auf Ligustrum ovalifolium finden sich zahlreiche Pykniden.

25. Juni. Die mit Pykniden besetzten Blätter des Ligusters fallen ab.

4. Juli. An den anderen Pflanzen ist nichts von einer Infektion bemerkbar.

Versuch IV.

Am 13. Juni wurde ein Versuch mit Ligustrum und den Pflanzen 2—7 und 10 angestellt.

Bis zum 14. Juli ist nichts von Pykniden oder Aecidien zu finden.

Diesen Mißerfolg auf Ligustrum ovalifolium führe ich darauf zurück, daß ich es trotz des damals herrschenden trockenen Wetters versäumte, den mit Fließpapier und Gaze umhüllten Zweig an den ersten beiden Tagen nach der Einleitung des Versuches zu bespritzen. Jedenfalls ist auch das Abfallen der infizierten Blätter bei den Versuchen II und III durch dieses ungünstige Wetter hervorgerufen.

Diese Versuchsergebnisse lassen es als ziemlich sicher erscheinen, daß eine Pleophagie bei Puccinia obtusata nicht vorliegt. Um die Richtigkeit dieser Annahme noch mehr zu erhärten, begab ich mich am 5. Juli 1907 an den Standort des von P. obtusata infizierten Phragmites communis in der Nähe der Hunzikerbrücke bei Bern.

Phragmites communis steht am südlichen Rande eines kleinen Baches, der von Südosten nach Nordwesten fließt. Im Norden befindet sich ein Kleefeld, im Westen ein Kartoffelacker, im Osten ein dichtes Gestrüpp von nicht infizierten Ligustrum vulgare, Juniperus, Rhamnus, Viburnum, Berberis u. a.; im Süden grenzt an die Region des Schilfes ein ebensolches Gestrüpp, in dem sich jedoch auf einer dicht an das Schilf reichenden, einige Schritte langen und breiten Fläche eine Anzahl von mit Aecidien gut besetzten Ligustrum befinden. Im Umkreise von etwa 20—30 Schritt von dem Schilf suchte ich Gestrüpp und Wegränder ab, fand aber nur einige Aecidien auf Rhamnus Frangula, die bekanntlich zu Puccinia coronata gehören. Von den Nährpflanzen der P. Isiacae war keine vorhanden. Die von mir dort vorgefundenen Pflanzen sind, mit Ausnahme der Kryptogamen und Gräser, die folgenden: Juniperus communis, Pinus silvestris; Majanthemum bifolium, Polygonatum multiflorum, Tofieldia calyculata; Epipactis rubiginosa; Salix sp., Populus alba; Carpinus Betulus, Corylus Avellana; Quercus pedunculata; Thesium alpinum, pratense; Berberis vulgaris; Ranunculus acer; Sinapis arvensis; Viola silvatica; Helianthemum vulgare; Acer campestre; Rhamnus Frangula; Euphorbia Cyparissias; Cornus sanguinea; Crataegus oxyacantha, Rubus caesius, Rosa sp., Potentilla Tormentilla, P. Fragariastrum; Hippocrepis comosa, Tetragonolobus siliquosus, Onobrychis sativa, Medicago lupulina, Lathyrus pratensis, Trifolium montanum, Tr. pratense, Ononis spinosa, Vicia Cracca; Pirola rotundifolia; Echium vulgare; Solanum tuberosum; Melampyrum silvaticum, Rhinanthus minor, Euphrasia officinalis; Pinguicula vulgaris; Plantago media, Pl. major; Galium silvaticum, G. mollugo, G. uliginosum; Viburnum Opulus, V. Lantana; Knautia silvatica; Taraxacum officinale, Centaurea Jacea, Bellis perennis, Carduus defloratus, Leontodon hastilis, Eupatorium cannabinum.

Bei Puccinia obtusata ist, soweit meine Versuche und Nachforschungen im Freien ein Urteil erlauben, eine Pleophagie also nicht anzunehmen; als ein weiterer Wirt für die Aecidiengeneration dieses Pilzes ist Ligustrum ovalifolium festgestellt.

Referate.

Garbowski, L., Ueber einen extrem verkürzten Entwickelungsgang bei zwei Bakterienspecies. (Biol. Centralbl. Bd. XXVII. 1907. No. 22. 7 pp. d. Sep.)

Bacillus tumescens Zopf zeigte in ganz auffallender Weise Nachkeimung der Sporen, wenn die Kultur auf Dextroseagar ausgeführt worden ist. Sämtliche Sporen gelangten nach dem Ausreifen zur Auskeimung. In dem Maße, wie neue Sporen im Laufe der nächsten Tage ausgebildet wurden, sah man auch immer mehr auskeimende Individuen. Inzwischen werden die aus den ersten Sporen ausgewachsenen vegetativen Stäbchen zu einer 2. Sporangiengeneration u. s. w. Da Keimungsbilder selbst nach 2—3 Monaten zu sehen sind, so folgt, daß auch die

sekundären Sporen zum Auskeimen und wahrscheinlich auch zur nochmaligen Fruktifikation gelangen können. Besonders auffällig ist das Auftreten von Keimstäbchen, denen noch die alte Sporenmembran anhängt und welche trotzdem schon neue Sporenanlagen aufweisen. Hier werden die Keimstäbchen direkt zu einem Sporangium. Da Stäbchen im Teilungszustande nur selten in den älteren Kulturen zu sehen sind, dagegen Keimungsbilder und Sporangien immer vorkommen, so läßt sich vermuten, daß die erwähnte Erscheinung der direkten Umwandlung des Keimstäbchens zum Sporangium öfter stattfinden muß. Beobachten kann man dieselbe nur dann, wenn die Sporenhaut noch dem Keimstäbchen anhaftet. Die neue Spore füllt das Keimstäbchen mitunter so vollständig aus, daß es scheint, es trete direkt eine neue Spore aus der alten Sporenhaut heraus. Verf. fand auch bei Bacterium asterosporus Keimsporangien. Es ist daher möglich, daß wir es mit einer allgemeinen durch die Bedingungen der künstlichen Kultur verursachten Erscheinung zu tun haben. — Die Folge der sekundären Sporenbildung von Bacterium tumescens war eine allmähliche Abnahme der Sporengröße beim Aelterwerden der entsprechenden Kulturen. Tabellen zeigen uns dies.

Auf $^1/_3$ Dextroseagar erhält sich die anfängliche Sporengröße in den Kulturen viel länger, zum Teil bleibt sie sogar ganz konstant. Das so verschiedene Verhalten auf 2 Nährsubstanzen, die dieselbe chemische Zusammensetzung, aber verschiedene Konzentrationsverhältnisse aufweisen, spricht dafür, daß es der Ueberfluß an Nährstoffen ist, welcher die wiederholte abgekürzte Entwickelung des Bacillus verursacht. Es sind auch die nachkeimenden Sporen verhältnismäßig am leichtesten im unteren Teile des Kulturröhrchens anzutreffen, wo die Nährstoffschicht am dicksten und die Feuchtigkeitsverhältnisse am günstigsten sind. Auch gewisse andere Nährsubstrate bedingen sekundäre Keimung, z. B. Ammoniumtartrat-Zuckeragar. Nach $^1/_2$-jähriger künstlicher Kultur ist die durchschnittliche Größe der Sporen gesunken, was durch Tabellen anschaulich gemacht wird. Matouschek (Wien).

Fuhrmann, Franz, Ueber Farbstoffbildung bei Bakterien. (Mitteil. des naturwissenschaftl. Vereins für Steiermark. Jahrg. 1906. Graz 1907. p. 22—38.)

Verf. hielt über das Thema im genannten Vereine im Mai 1906 einen Vortrag, der folgende Punkte berührte: Was ist bei der Reinkultur gefärbt? Einteilung der chromogenen Bakterien nach Beijerinck in chromophore, chromopare und parachromophore; eine scharfe Trennung der zwei letztgenannten Bakterien ist nicht möglich. Daher schlug Migula eine andere Einteilung vor, die auf der Löslichkeit der Bakterienstoffe in Alkohol oder Wasser und der Unlöslichkeit derselben in diesen Medien basiert (in H_2O unlösliche Farbstoffe, in H_2O lösliche, in H_2O und Alkohol unlösliche Pigmente).

Genaueres Eingehen auf die Lipochrome, das Prodigiosin, das Bakteriofluorescein, das Pyocyanin (vergleichende Untersuchungen über die chemischen Leistungen der bekannten Fluorescentes liquefacientes sind sehr wünschenswert). Ventilierung der Frage: Welche Grundbedingungen existieren für das Zustandekommen der Farbstoffbildung? Analysen der Farbstoffe. Magnesiumsalze scheinen für die Farbstoffbildung von ganz besonderer Bedeutung zu sein. Welche Beziehungen und Verhältnisse existieren zwischen Farbstoffbildung einerseits und dar-

gebotener Nahrung andererseits? Bedeutung des Sauerstoffes für die Entstehung der Farbstoffe. Einfluß des Lichtes und der Temperatur auf die Farbstoffbildung. Ob es überhaupt gelingt, aus farbstoffbildenden Bakterien farblose Rassen durch Zucht dauernd hervorzubringen, ist zweifelhaft und noch nicht mit Sicherheit geglückt; eine Beobachtungsdauer von wenigen Jahrzehnten genügt zur Entscheidung dieser Frage nicht. Matouschek (Wien).

Grüss, Abhandlungen über Enzymwirkungen. II. Anorganische Oxydasewirkungen. (Zeitschr. für Pflanzenkrankh. 1907. Heft 4.)

Verf. bespricht zunächst an der Hand einiger Versuche seine Ansichten über die Wirkungen des Kupferoxyduls als Oxydase, Peroxydase und Katalase, wodurch es wahrscheinlicher gemacht werde, daß auch Enzyme z. B. ebenso oxydasische, wie peroxydasische Wirkungen auszuüben in der Lage sind.

Dann werden die für die Untersuchung der Enzyme nach Verf. den von seiten der Chemiker gewöhnlich benutzten Methoden der Darstellung mit Alkohol, Aether oder Aceton erheblich vorzuziehenden kapillaranalytischen Verfahren besprochen und an Beispielen geschildert. Als Folgerungen führt Verf. aus Versuchen mit der Rindenschicht der Kartoffelknolle an, daß sich in derselben mindestens zwei Körper befinden, von denen der eine Peroxydasewirkung aufweist, der andere, als Antioxydase nicht nur die Autoxydation durch den molekularen Luftsauerstoff verhindert, sondern auch die Oxydation durch den atomistischen Sauerstoff, der durch die Peroxydase aus H_2O_2 abgespalten wird. Durch Erhitzen scheint die Autoxydase nicht zu leiden, wohl aber der peroxydasisch wirkende Körper.

(Die weiteren Ausführungen über die Rindenoxydase, die Parenchymoxydase, die Antioxydase sowie über verschiedene kapillaranalytische Versuche u. s. w., die sich weiterhin anschließen, mögen im Original verglichen werden, zumal man sich wohl auch nur an der Hand der Originalarbeit ein Urteil über die benutzte Methodik bilden kann.)

Ehrenberg (Breslau).

Fuhrmann, F., Vorlesungen über Bakterienenzyme. Jena (Gustav Fischer) 1907.

In der Einleitung des Werkes bringt Verf. zunächst einige Beispiele für die je nach den äußeren Umständen bald im Aufbau, bald im Abbau überwiegende Tätigkeit der Kleinlebewesen, um dann einen kurzen geschichtlichen Ueberblick über die Enzymforschung zu geben.

Bei Ausführung des Kapitels: „Wirkungsweise und Einteilung der Bakterienenzyme“ behandelt Verf. zunächst die Analogie der Enzymwirkung mit derjenigen von Katalysatoren, was sich unter anderem besonders in der neuerdings mehrfach festgestellten Reversibilität von enzymatischen Vorgängen ausprägt. Daß bei der Enzymwirkung in der Regel zunächst nicht, wie bei den Katalysatoren, ein echter Gleichgewichtszustand erreicht wird, sondern neue Zugabe des Enzyms die Reaktion von neuem anregt, hat seine Ursache in der Veränderung des zugesetzten Enzyms selbst, oder in der Behinderung der Wirkung desselben durch die entstandenen Spaltungsprodukte, soweit diese löslich sind, und nicht etwa durch andere Einwirkungen, eventuell auch enzymatischer Art, weiter zerlegt und so ihrer schädigenden Wirkung beraubt werden. Es folgt weiter die Besprechung der Wirkungen fördernder

wie schädigender Art, welche andere Stoffe auf Enzyme und ihre Tätigkeit ausüben, sowie der wahrscheinlichen chemischen Grundlagen der Zusammensetzung der Enzyme, wie auch ihrer Wirkungsäußerungen und der diesbezüglichen Theorieen. Den Schluß des Kapitels bildet eine Uebersicht über die Bakterienenzyme, deren Behandlung nun die folgenden Abschnitte gewidmet sind.

Die proteolytischen Bakterienenzyme werden in 6 Kapiteln behandelt. Es ist hier natürlich nur möglich, einige Einzelheiten aus dem reichen Tatsachenmaterial, das in ihnen seine Würdigung findet, zu erwähnen. Die mannigfaltigen Gewinnungs- und Untersuchungsmethoden sind in wünschenswertem Umfang behandelt, und das Literaturverzeichnis ermöglicht jederzeit nähere Unterrichtung. Für viele Leser von Interesse werden die Hinweise auf die Verfolgung der Spaltungsvorgänge bei der Enzymwirkung mit Hilfe physikalischer Methoden sein, so z. B. die Untersuchung des Drehungsvermögens der gebildeten optisch aktiven Peptone, oder die Bestimmung des Brechungsvermögens und seiner Aenderungen mit dem Refraktometer.

Von einzelnen proteolytischen Bakterienenzymen kommen zunächst die Bakterienproteasen zur Besprechung. Verf. weist darauf hin, daß ihre Bildung keineswegs, wenigstens soweit merkbare Mengen in Betracht kommen, eine dauernde lebenswichtige Funktion der Bakterienzellen, vielmehr von einer Reihe äußerer Faktoren wesentlich abhängig ist. So scheinen alle Kohlehydrate mehr oder minder der Produktion von Proteasen hinderlich zu sein, nicht, wie man früher glaubte, nur durch Säurebildung die Wirkung dieser Enzyme zu hemmen. Aehnliche Wirkungen wie die Kohlehydrate zeigen auch andere Stoffe, unter anderen Glukoside und im allgemeinen ist die Anwesenheit von Eiweißstoffen für die Bildung der Bakterienproteasen als unbedingt notwendig anzusehen. Gegen die Wirkung der Proteasen leistet das native Eiweiß den stärksten Widerstand, viel leichter wird z. B. koaguliertes gespalten; der Erfolg kommt in großen Zügen der typischen Eiweißverdauung gleich, es findet vorwiegend die Bildung von Aminosäuren statt. Im Vergleich mit der Zersetzung durch lebende Bakterien bleiben die Riechstoffe, wie Indol, Skatol u. dergl. aus, die auf die Rechnung von sekundären Atmungs- und Stoffwechselvorgängen beim Bakterienleben zu setzen sind.

Die Bakterienproteasen zählen, wie die anderen Enzyme, zu den thermolabilen Körpern. Sie werden wohl zumeist, wenn gelöst, durch 1-stündiges Erwärmen auf 70° vernichtet, manche überstehen noch nicht 1-stündige Erwärmung auf 55°. Dagegen vertragen die durch Fällung erhaltenen, trockenen Enzympulver ohne nennenswerte Schädigung der Wirkungen recht hohe Hitzegrade, das des Vibrio Finkler-Prior 140° 10 Minuten lang. Eine Reindarstellung von Bakterienproteasen ist übrigens noch nicht gelungen.

Säuren wie Sonnenlicht, letzteres wohl besonders in Verbindung mit dem Luftsauerstoff, wirken verschieden und zum Teil sehr stark schädigend auf Bakterienproteasen. Normales Blutserum, besonders aber künstlich immunisiertes, zeigt stärkere Gerinnungswirkungen.

Weiter finden Papayotin, elastinlösendes Enzym und Kasease kurze Erwähnung, worauf die Behandlung der Lysine folgt. Die Bakterienhämolysine werden eingehend besprochen, wobei auch der die Lysinwirkung hemmenden Stoffe normaler Sera, der Antilysine gedacht wird, sowie auch der die Lysinbildung fördernden Wirkungen sehr geringer Alkalimengen.

Die Hämolysine der verschiedenen Bakterienarten sind zum Teil nur wenig hitzewiderstandsfähig, wie das Staphylolysin; eine Uebergangsstellung besitzt aber schon das Hämolysin der Hühnercholera, das erst durch halbstündige Erwärmung bei 70° vernichtet wird, während das Pyocyanolysin zu seiner Zerstörung 120° 1/2 Stunde lang erfordert. Aehnlich verhält sich das Colilysin. So ist eine Einteilung der Hämolysine in thermostabile und thermolabile möglich, wobei als Grenze die Vernichtung bei 56° in 1/2 Stunde gewählt wird.

Den bakteriellen Hämolysinen nächst verwandt sind diejenigen Bakterienenzyme, welche eine Auflösung von weißen Blutkörperchen oder von arteigenen oder artfremden Bakterienzellen herbeiführen, wie das sehr wärmeunbeständige Leukozidin und andererseits die Pyocyanase.

Als letzte Gruppe der proteolytischen Bakterienenzyme werden die Koagulasen behandelt. Das erst besprochene Labenzym ist je nach Konzentration und Reaktion der Scheinlösung verschieden widerstandsfähig gegen Hitze; gegen größere Säure- und Alkalimengen wie gegen Antiseptika empfindlich. Auf tiefer gehende Verschiedenheiten zwischen tierischem und pflanzlichem Lab weisen die besonderen Einflüsse verschieden immunisierter Blutsera hin. Labähnliche Wirkungen wurden im allgemeinen bei den Gelatine verflüssigenden Bakterien nachgewiesen und auch durch Conn ein verhältnismäßig reines Lab aus ihnen gewonnen. Es handelt sich beim Bakterienlab wahrscheinlich um ein Endoenzym, das mehr oder weniger leicht die tote Zelle verläßt.

Neben der spaltenden Tätigkeit der proteolytischen Enzyme ist nun auch eine Annahme synthetischer Leistungen derselben nicht ganz von der Hand zu weisen, und dürfte namentlich nach der biologischen Seite hin weitergehende Beachtung verdienen.

Der nun sich anschließende Hauptteil des Buches umfaßt die Kohlehydrat spaltenden Enzyme in den Kapiteln 9 und 10, also bei den Bakterien ungemein verbreitete Enzyme, die eine der Säurespaltung analoge hydrolytische Spaltung veranlassen, und insofern in weiterem Sinne spezifisch wirken, als sie nur ein Kohlehydrat oder eine kleine Gruppe nächstverwandter Vertreter dieser Verbindungen angreifen.

Nach Behandlung der Untersuchungsmethoden werden die einzelnen Vertreter aus der Reihe der hier in Frage kommenden Enzyme besprochen.

Die Stärke in Maltose und Dextrine zerlegende Amylase (Diastase) dürfte eigentlich zwei Enzyme enthalten, wie dies vornehmlich durch Dialysierungsversuche wahrscheinlich gemacht worden ist, nämlich ein Stärke lösendes und ein verzuckerndes Enzym. Die amylolytischen Enzyme der Bakterien sind zwar nicht als identisch mit der Malzamylase anzusehen, decken sich aber in ihren Grundeigenschaften mit ihr. Im allgemeinen ist die Bildung der Amylase bei den Bakterien nicht an die Anwesenheit bestimmter Stoffe im Nährboden gebunden, doch scheint ihre Menge durch Stärkedarbietung sich zu vermehren. Die Grenze der Wirkung der Bakterienamylase liegt zwischen 60 und 70°, verschieden je nach den einzelnen Bakterienarten. Das durch Alkoholfällung gewonnene, stark verunreinigte Enzympulver ist dagegen, wie auch bei anderen Enzymgruppen, in der Lage, Wärmegrade bis 120 und mehr zu ertragen.

Von den sonstigen Kohlenhydrat lösenden Enzymen werden dann noch die Cellulase, Pektinase, Gelase, Invertase, welch letz-

tere unter anderen beim Froschlaichbacillus, Sauerteigbacillen und peptonisierenden Milchbakterien festgestellt wurde, und die Laktase besprochen. Daran schließt sich die Behandlung einer Sammelgruppe verschiedenartiger Enzyme.

Unter diesen werden zunächst die glukosidspaltenden Enzyme erwähnt, die in der Gruppe der Bakterien wahrscheinlich noch durch mehr als nur durch das Emulsin vertreten werden. Indes ist eine Trennung der Enzyme von den Bakterien bisher nicht gelungen.

Die fettspaltenden Enzyme, die Lipasen, sind wohl als bei den Bakterien weit verbreitet anzusehen, wenn auch gerade auf diesem Gebiet die Erbringung weiteren Beweismaterials bezüglich der Feststellung der Grundlagen der fettlösenden Bakterienwirkungen erwünscht wäre. Die Oxydasen sind ebenso, wie sie im Bakterienreich weit verbreitet sind, auch noch wenig im einzelnen nachgewiesen. Das ist bisher nur für die Tyrosinase und die Essigsäurebakterienoxydase der Fall, über die dann sich auch nähere Ausführungen finden. Noch weniger ist über die Natur der bakteriellen Reduktasen bekannt.

Im Schlußkapitel finden endlich die gärenden Enzyme, die Zymase, Urease, das Milchsäureenzym ihre Besprechung. Wie die Aethylalkoholbildung, so ist natürlich auch das Auftreten von Zymase bei den Bakterien weit verbreitet, wenn auch noch nicht viel studiert. Das Enzym der Harnstoffzersetzung, die Urease, ist wahrscheinlich nur äußerst schwierig, vielleicht gar nicht von den lebenden oder toten Zellen zu trennen. Eingehendere Kulturmethoden und dergl. werden angegeben. Zuletzt werden, wie erwähnt, Angaben über das Milchsäureenzym gemacht.

Ehrenberg (Breslau.)

Lang, H. K., Ueber ein ausgedehntes Vorkommen von sauerstofffreiem Trinkwasser in Brunnen. (Münch. med. Wochenschrift. 1907. p. 1922.)

L. fand in der Nähe von Würzburg einen sauerstofffreien Grundwasserstrom und nimmt, auf Versuchsergebnisse gestützt, an, daß das Wasser durch einen schwer lösliche organische Stoffe enthaltenden Boden fließt und darin ohne Beteiligung von Bakterien langsam, oder mit deren Beteiligung rasch seinen Sauerstoff verliert.

Georg Schmidt (Berlin).

Ehrlich u. Kolkwitz, Chemisch-biologische Untersuchungen der Elbe und Saale. (Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zucker-Industrie. 1907. p. 478.)

Die Untersuchungen bezwecken, ein Gesamtbild der Wasserverhältnisse der Elbe während eines größeren Zeitraums zu geben. Angeregt wurden sie vom Verein der deutschen Zuckerindustrie, da man in erster Linie die Zuckerfabriken für die Verschmutzung der Elbe verantwortlich machte. Es wurden von 1903 an 6 Elbbereisungen unternommen, meist im Winter, weil dann die Zuckerfabriken gewöhnlich große Mengen Abwässer entlassen. Aus der Elbe wurden an 14 Stellen Proben entnommen, die sich auf die Strecke von Schandau (böhmische Grenze) bis Hamburg verteilen, aus der Saale 9 Proben, die sich auf die Strecke Halle-Saalemündung verteilen. Die Untersuchung des Wassers war eine chemische und biologische. Folgendes möge hervorgehoben sein, die interessanten Einzelheiten mögen im Original nachgelesen werden. Stets war die Versalzung der Elbe durch die in die Saale mündenden Abwässer der Salzwerke eine sehr große, dergestalt, daß z. B. der Gehalt

an Chlor nach der Einmündung der Saale von 14 auf 823 mg pro Liter stieg. Demgegenüber treten die Verunreinigungen durch organische Stoffe sehr zurück. Bei hohem Wasserstande war wenig wahrzunehmen, bei niederem zeigten sie sich unterhalb größerer Städte (Dresden, Dessau), nach 10—20 km waren alle Spuren der Abwässer für die chemische Analyse beseitigt. Der Einfluß der Zuckerfabrikabwässer war bei hohem Wasserstande nicht nachweisbar, nur an der Einmündung derselben zeigte sich sporadische Vegetation von Abwässerpilzen. November 1905, wo sämtliche deutsche und böhmische Zuckerfabriken in intensiver Tätigkeit sich befanden, trat bei niederem Wasserstande besonders die Verschmutzung durch böhmische Fabriken hervor, bis zur Saalemündung waren diese Einflüsse aber wieder verwischt. In der Saale war die Einwirkung der Zuckerabwässer oft deutlich zu erkennen. Unterhalb Magdeburg ließ sich Verschmutzung nicht mehr nachweisen, ebensowenig in Hamburg. Die Oxydierbarkeit des Elbe- und Saalewassers war trotz der intensiven Tätigkeit der Fabriken nicht höher, sondern im Mittel geringer, so daß man ihren Abwässern eine Erhöhung der Oxydierbarkeit nicht ohne weiteres zur Last legen kann.

Nach der biologischen Analyse erweist sich die Elbe ziemlich einheitlich, nur an den Einmündungen der Abwässer ändert sich das Bild erheblich. Gekennzeichnet sind diese Stellen besonders durch Sphaerotilus, der hier fellartige Belege bildet, oft losgerissen wird und weit flottieren kann, wobei er aber nicht wächst. Die Zersetzung dieser oft ungeheuren Pilzmassen läßt keinerlei Kalamitäten zu Tage treten. Außer an Abwässereinmündungen wächst Sphaerotilus im freien Wasser der Elbe und Saale nicht, auch nicht an Wehren, wo er wegen seines Sauerstoffbedürfnisses vorzukommen pflegt. Die Pilzflocken, wie sie sich in den Filtern des Magdeburger Wasserwerkes manchmal finden, sind nicht hier gewachsen, sondern angeschwemmt.

Im allgemeinen läßt sich sagen, daß ernsthafte Kalamitäten, die auf schlechte Beschaffenheit des Flußwassers zurückzuführen wären, niemals bemerkt wurden, auch nicht auf der Reise August 1904, wo der Wasserstand ein außergewöhnlich niedriger war. Eichinger (Halle a. S.).

Luerssen, A., Ein Fall von Flußverunreinigung durch die Abwässer einer Zellstofffabrik. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten. Bd. LVIII. 1907. Heft 1. p. 121.)

Bisher hat sich von den sieben Zellstofffabriken nur die jetzt geschlossene zu Wolfach in Baden durch ihre Abwässer unangenehm bemerkbar gemacht. L. hat nun aber nachgewiesen, daß die Ursache eines ganz eigenartigen Gestankes im Großen Pegel zu Königsberg in Fäulniserscheinungen des durch die Abwässer der oberhalb der Stadt am Neuen Pegel gelegenen Zellstofffabrik verunreinigten Wassers zu suchen war. Die Fabrik arbeitet nach dem Tilghman-Mitscherlichschen Verfahren, bei welchem das Holz durch Kochen in einer Lösung von schwefligsaurem Kalk und wässeriger Lösung von schwefliger Säure seiner inkrustierenden Substanz, welche etwa $^1/_3$ des Holzes ausmacht, beraubt wird. Die Abwässer aus dem Ueberlaufsbecken der Fabrik begünstigten bei gesteigerter Temperatur im Schlamm des Pegels das Wachstum von anaëroben Bakterien, welche den charakteristischen Pegelgestank erzeugten. Abhilfe wurde geschaffen durch Abführung der durch Kalk und andere Chemikalien gut geklärten und neutralisierten Abwässer, deren Temperatur auf 35—40° C herabzumindern ist, in die städtische Kanalisation. Schill (Dresden).

Koning, Biologische und biochemische Studien über Milch. V. Die Enzyme. Erster Teil. (Milchwirtschaftliches Centralblatt. 1906. Heft 12; 1907. Heft 2 u. 6.)

Verf. gibt zunächt eine eingehende Uebersicht über die bisherige Enzymforschung, und berührt dabei auch die Behringschen Ansichten über die Brauchbarkeit von roher bezw. gekochter Milch für die Ernährung. Die Oxydasen hat er selbst nicht weiter untersucht, da die Reaktionen auf diese Enzyme sehr unzuverlässig sind.

Als Reaktion auf Peroxydasen verwendet er einmal eine Lösung von Guajakharz in starkem Spiritus (1 : 5), ferner 1-proz. Paraphenylendiaminlösung. Beide Mittel sind indes in ihrer Wirkung nicht gleichzustellen. Mit Wasserstoffsuperoxyd und Guajaklösung konnte bei 68° schon eine Schwächung der Peroxydase der Milch festgestellt werden. Doch lassen sich in Milch, die 30—45 Minuten lang auf 70° pasteurisiert wird, die Peroxydasen noch nachweisen. Bei 72° werden diese Enzyme vernichtet oder lassen sich mit Guajakharz wenigstens nicht mehr ermitteln. Es sind außerdem nicht nur Proben frischer Milch untereinander in ihrem Gehalt an Peroxydasen verschieden, sondern dieser Gehalt schwankt auch bei demselben Individuum in den ersten, mittleren und letzten Milchstrahlen. Ebenso sind während des Beginns, der Mitte und des letzten Teils der Laktationsperiode Unterschiede wahrzunehmen. Die Reaktion ist meist bei den ersten Milchstrahlen am stärksten, bei den letzten am schwächsten, und bleibt bei Kolostrum bisweilen aus.

Die zweite, „Storchsche“ Reaktion ermöglichte es, festzustellen, daß die Temperaturgrenze derselben für Milch bei 74° und nicht bei 80° liegt, wie frühere Abhandlungen angaben. Sie erscheint als sehr zuverlässig, um pasteurisierte Milch bei einer Erwärmung während 30—40 Minuten auf 74° zu kontrollieren. Wenn auch Ausnahmen bestehen, so ist weiter auch hier die stärkste Peroxydasereaktion bei den ersten Milchstrahlen zu verzeichnen.

Im allgemeinen ist zu sagen, daß alle Proben roher Milch Peroxydasen enthalten, und daß die Storchsche Reaktion bei herrschender Lufttemperatur und die Guajakharzreaktion bei 25° stets diese Enzyme nachweisen. Die letzgenannte Reaktion verläuft für über 72° erwärmte Milch negativ, die andere reicht um zwei Temperaturgrade höher.

Bezüglich der Diastase erwähnt Verf. zunächst, daß die vielen Bakterien, die er durch Einimpfen in sterile Milch untersuchte, dieses Enzym dabei nicht, oder nur in geringer Menge hervorbringen, so daß der normale Diastasegehalt der rohen Milch keineswegs der Bakterienflora derselben entspricht. Es folgt zunächst eingehende Literaturbesprechung, und dann Diskussion der anzuwendenden Methodik, woraus erwähnt sei, daß sich bei Anwendung der auxanographischen Methode von Beijerinck-Wijsman Schwierigkeiten ergaben. Festgestellt wurde weiterhin, daß in der Regel die ersten und mittleren Milchstrahlen aus einem und demselben Strich etwas mehr Diastase enthalten, als die letzten; daß durch Erwärmen der Milch auf 65° während 30 Minuten die Diastase vernichtet wird und als Grenztemperatur der diastatischen Reaktion der Milch 68° anzunehmen sein dürfte.

Es folgen Ausführungen über die „Reduktase“ der frischen, normalen Milch, die bei 45° Methylenblauformalin zu einem farblosen Körper reduziert, eine Wirkung, die sich auch bei sauerer Milch immer, allerdings erst verspätet, zeigte. Verf. glaubt, daß die Reduktase in der Milch sowohl in freiem wie in gebundenem Zustande vorkommt, aus

letzterem durch Alkali in Freiheit gesetzt wird und dann die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht. Die Bakterienflora scheint von geringem Einfluß auf den Reduktasegehalt der Milch zu sein. Ziegenmilch reduziert die Methylenblaulösung nicht. Durch Erwärmen der Milch auf 50—65 ° wird die Reduktase allmählich unwirksam. Ihre Grenzreaktion liegt bei 68 °. Zentrifugenschlamm zeigt keine Reduktasen und keine Diastasenreaktion, wohl aber solche auf Peroxydasen und auf die Loewsche Katalase. Die letzten Milchstrahlen sind am reichsten an Reduktase, wie auch der Gehalt an diesem Enzym und an Diastase bei pathologischen Vorgängen zunimmt.

Was die Katalase anbelangt, über die zunächst ein eingehender Literaturüberblick gegeben wird, so schreibt ihr Verf. große Bedeutung für die Milchbeurteilung zu und gibt zunächst Methoden für ihre Bestimmung an. Er versteht dann unter „Katalasezahl" die Menge H_2O_2, die durch 100 g Milch innerhalb 2 Stunden zersetzt wird.

Was die Bedeutung des Katalasegehalts der Milch anbetrifft, so scheint mit ihrer Feststellung ein Mittel gefunden zu sein, euterkranke Kühe festzustellen, und zwar in außerordentlich scharfer Weise. In diesem Fall, ebenso bei alter Milch und bei Milch, die mit Biestmilch gemischt ist, erhält man anormal hohe Enzymzahlen. Der hohe Katalasegehalt von Milch und Biestmilch steht in enger Beziehung zu ihrem Gehalt an Leukocyten. Bei der katalasereichen Milch der Monate Juni-August dürfte die Bakterienflora nicht ohne Einfluß sein, denn fast alle untersuchten Mikroorganismen bilden, in sterile Milch eingeimpft, Katalase. Frische, gut pasteurisierte Milch enthält keine Katalase, aber die nach der Pasteurisierung sich entwickelnden Bakterien erzeugen einen allmählich steigenden Gehalt. Es ist indes negative Reaktion pasteurisierter Milch auf Katalase kein Zeichen dafür, daß die Milch gehörig pasteurisiert worden ist, sondern sie weist nur auf eine Erwärmung über 65 ° hin. Katalasereaktion deutet entweder unzureichende Pasteurisierung oder starken Bakteriengehalt an.

Bezüglich der Milch für Säuglingsernährung empfiehlt Verf., jede Milch, die innerhalb 2 Stunden mehr als 25 mm Gas bei der Katalaseprobe erzeugt, zu verwerfen. Ehrenberg (Breslau).

Seligmann, E., Ueber die Reduktasen der Kuhmilch. II. (Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. LVIII. 1907. Heft 1. p. 1.)

Schardinger machte die reduzierenden Eigenschaften der Milch anschaulich durch folgende Reagentien:

1) Eine Methylenblaulösung (im folgenden abgekürzt: M.): 5 ccm gesättigter alkoholischer Lösung + 195 ccm Wasser.

2) Eine Formalin-Methylenblaulösung (kurz: FM.): 5 ccm gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung + 5 ccm Formalin + 190 ccm Wasser.

Gegen diese Farblösungen verhält sich Kuhmilch so, daß

1) von 2 Proben frisch ermolkener Milch, welche mit M. bezw. FM. gefärbt werden, bei 45—50 ° die Probe mit FM. in etwa 10 Minuten entfärbt wird, während die Probe mit M. gefärbt bleibt,

2) von 2 ähnlich behandelten Proben einer Milch, welche das von Soxhlet so benannte Inkubationsstadium überschritten hat, also sauer ist, die Probe mit FM. immer entfärbt wird, während die Probe mit M. zuweilen entfärbt wird, zuweilen gefärbt bleibt, je nach Alter oder Säuerungsgrad der Milch. Je näher eine Milch der Gerinnung (durch Kochen) steht, um so rascher wird meist eine mit M. gefärbte Probe entfärbt,

3) Proben gekochter Milch keine Entfärbung zeigen weder bei M.- noch FM.-Zusatz.

Die M.-Reaktion erklärte Schardinger für eine Folge der Reduktionstätigkeit der Milchbakterien, über die Ursache der FM.-Reaktion sprach er sich nicht aus. Smidt bewies den bakteriellen Charakter der M.-Reaktion, erklärte aber die FM.-Reaktion in frischer Milch für eine Wirkung bakterieller und fermentativer Kräfte. — Das auslösende Ferment benannte Smidt „Aldehydkatalase“; nach Ansicht von Seligmann wäre die Bezeichnung „indirekte Reduktion“ zutreffender.

Seligmann hat bereits früher und jetzt wieder Versuche veröffentlicht, aus welchen die bakterielle Natur der M.-, wie der FM.-Reaktion hervorgeht. Verf. will aber nicht behaupten, daß Vorhandensein von echten reduzierenden Fermenten in der Milch ausgeschlossen sei; nur das bisher als Fermentwirkung angegebene erwies sich als solche nicht. Schill (Dresden).

Löhnis, Herstellung, Wert und Preis hygienisch einwandfreier Milch. (Milch-Zeitung. 1907. p. 349.)

Verf. ist der Ansicht, daß die Gewinnung einer hygienisch einwandfreien Milch durchführbar ist, jedoch nicht in allen landwirtschaftlichen Betrieben und nur unter erheblichen Produktionskosten. Die Herstellung solcher Milch ist nur dann rentabel, wenn für 1 Liter im Einzelverkaufe mindestens 40 Pfennig erzielt werden. Eigene (in Leipzig ausgeführte) Versuche des Verf. haben gezeigt, daß es in der Tat möglich ist, dauernd eine Milch zu gewinnen, die 100 bis 500 Keime in 1 ccm enthält, und die als Trink- und Kindermilch ohne weitere Behandlung Verwendung finden kann. L. präzisiert seinen Standpunkt in folgender Weise:

1) Hygienisch einwandfreie Milch kann nur dort hergestellt werden, wo eine fortlaufende, sorgfältig durchgeführte ärztliche, tierärztliche und bakteriologische Betriebskontrolle unbedingt sichergestellt ist. Das Melken und die weitere Behandlung der Milch muß von geeignetem Personal unter Aufsicht der mit der bakteriologischen Betriebskontrolle beauftragten Personen geschehen.

2) Durchaus nicht alle vom Tierarzt als gesund befundenen Tiere sind zur Gewinnung einer einwandfreien Milch tauglich. Sowohl diejenigen Tiere müssen ausgeschaltet werden, die an sich eine zu keimreiche Milch liefern (? Ref.), wie auch die, deren Milch einen unangenehmen Geschmack hat.

3) Die Gewinnung einer einwandfreien Milch setzt eine besonders sorgfältige Fütterung voraus, da sich in keimarmer Milch der Futtergeschmack viel deutlicher bemerkbar macht, als in der gewöhnlichen Milch mit Kotgeschmack.

4) Das zur Verwendung bestimmte Wasser ist eingehend zu kontrollieren. Mitunter sind die Wasser auf dem Lande so reich an sporenbildenden, schädlich auf die Milch einwirkenden Bakterien, daß aus diesem Grunde die Gewinnung einer einwandfreien Milch unmöglich wird.

5) Der günstige Einfluß größter Sauberkeit muß durch die Verwendung sterilisierter Gefäße unterstützt werden.

Aus diesen Sätzen geht hervor, daß also

1) keineswegs von allen Landwirten die Gewinnung einer einwandfreien Milch gefordert werden kann,

2) auch in den dazu geeigneten Betrieben nicht von allen Kühen zu jeder Zeit eine einwandfreie Milch geliefert wird,

3) die erforderlichen besonderen Vorsichtsmaßregeln einen entsprechend höheren Preis derartiger Milch unbedingt im Gefolge haben müssen. Vogel (Bromberg).

Wohl, Die neueren Ansichten über den chemischen Verlauf der Gärung. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1907. p. 1169.)

Verf. legt des näheren dar, wie sich allmählich die Ueberzeugung befestigte, daß alle chemischen Reaktionen des lebenden Körpers unter dem Einfluß von Enzymen verlaufen. Die Tätigkeit dieser Enzyme erweist sich ausnahmslos an die Gegenwart des Wassers geknüpft. Das weitere Eindringen in diese Fragen führte zu der Auffassung, daß alle Lebensvorgänge als enzymatisch beeinflußte chemische Reaktionen anzusehen seien, und zwar als solche, bei welchen es sich um Anlagerung oder Abspaltung von Wasser handelt. „Alle Enzyme, die Fett, die Zucker, die Eiweiß spalten, wirken ja wasseranlagernd, alle aufbauenden Enzyme wasserabspaltend, und eine große Reihe von Erfahrungen spricht dafür, daß bei Enzymen, wie bei chemischen Katalysatoren, beide Arten von Wirkungen regelmäßig nebeneinander verlaufen."

So geben also die neueren Forschungen der ursprünglich von Baeyer begründeten Auffassung Recht, daß der Vorgang der Gärung primär als eine Wasserabspaltung zu betrachten sei.

Verf. geht ausführlich auf die Ergebnisse der weiteren Studien über diese Fragen ein und kommt zu dem Resultat, daß der jetzige Stand unserer Kenntnisse über den chemischen Verlauf der Gärung durch eine Gleichung ausgedrückt werden könne, bei der das Molekül Traubenzucker zunächst durch Wasseraustritt und nachfolgende hydrolytische Spaltung in ein Molekül Glycerinaldehyd und ein Molekül Methylglyoxal zerfällt. Im weiteren Verlauf des Gärungsvorganges bildet sich aus Glycerinaldehyd unter Wasserabspaltung Methylglyoxal und dieses geht in die zugehörige Oxysäure, in Milchsäure über. In Glycerinaldehyd, Methylglyoxal und Milchsäure sind also die wirklichen Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung zu erblicken. Gegen diese Annahme ist der Umstand geltend gemacht worden, daß keiner dieser Körper selbst gärungsfähig ist. Verf. widerspricht einer solchen Auffassung jedoch mit der Begründung, daß diese Substanzen im nascenten Zustande doch wohl eine andere Reaktionsfähigkeit besitzen werden als im fertig gebildeten. Das Auftreten von Milchsäure bei der Gärung ist außerdem in einwandfreier Weise nachgewiesen worden. Vogel (Bromberg).

Kohl, F. G., Ueber das Glykogen und einige Erscheinungen bei der Sporulation der Hefe. (Berichte der deutschen botan. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 74—85. 2 Textfig. 1 Tafel.)

In den Sklerotien des Mutterkornes wird Fett und kein Glykogen entwickelt, und so mag es auch sonst häufiger zu sein als gewöhnlich angenommen wird. Glykogen ist also nicht ausschließlich Reservestoff.

Glykogen tritt bei der Keimung von Mucorsporen erst im Keimschlauche auf. Bei der Hefe spielen die Eiweißkristalloide als Reserve- oder Speicherstoff eine große Rolle. Bildet die Hefe Sporen, so ist der Fettgehalt der Sporenmutterzellen sehr groß; erst später erscheint etwas Fett in den jungen Sporen. Wenn auch Glykogen in den Sporenmutterzellen auch auftritt, so verschwindet es später ganz. Die noch membranlosen Sporen werden von Eiweißkristalloiden umgeben. Bei der Entwickelung der Sporenhaut verschwinden die letzteren. Bei der

Sporenbildung bemerkte Verf. direkte Kernteilung: Der Kern zieht sich in die Länge und nimmt die Form einer Hantel an. Bei ausbleibender Teilung umschließt die Hefezelle nur eine Spore. Bei der Sporulation sowie bei der Bildung von 4 Sporen in der Hefezelle bleibt ein extrasporulärer Kern oft übrig. Matouschek (Wien).

Strohmer, F. und **Salich, R.**, Ueber Zuckerzersetzungen im Zuckerbrei. Ein Beitrag zur Frage der unbestimmten Verluste bei der Diffusion. (Oesterreich-ungarische Zeitschr. f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1906. Heft 2. 4 p. des Sep.-Abdr.)

Die Untersuchungen bezogen sich darauf, ob im Rübenbrei eine Zuckerzersetzung eintritt, falls derselbe nicht sofort der Zuckerbestimmung zugeführt, sondern durch kürzere oder längere Zeit ohne Zusatz eines Konservierungsmittels sich selbst überlassen bleibt. Zu diesem Zwecke wurde in dem gut durchmischten schwartenfreien Rübenbrei die Zuckerbestimmung mittels heißer wässeriger Digestion nach der Methode von Herles einmal sofort nach der Breigewinnung vorgenommen, das andere Mal in wohl ebenfalls sogleich nach der Gewinnung ausgewogenen Breianteilen, jedoch erst nach verschieden langer Aufbewahrung derselben unter verschiedenen Verhältnissen ausgeführt. Es zeigten die mehrjährigen Versuche folgendes:

1) Enzyme und Bakterien führen während der kurzen Zeit des Diffusionsprozesses keine merkbaren Zuckerverluste herbei.

2) Dies gilt für Rüben aus verschiedenen Ländern und von verschiedener Reife, so daß dadurch die im Punkte 1 mitgeteilte (schon von Claassen, Herrmann, Pellet u. A. ausgesprochene) Ansicht verallgemeinert werden kann. Matouschek (Wien).

Bauer, Emil, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei. (Vortrag, gehalten in der Sektion VIc. des intern. landwirtsch. Kongresses in Wien.) (Chemiker-Zeitung. 1907. No. 50 u. 52.)

Nach unseren heutigen Kenntnissen ist die Wirkung eines richtig geleiteten Milchsäureprozesses in folgenden Momenten zu suchen:

1) Die Hefe benötigt zur Gärung eines sauren Mediums, wobei die Säure einerseits den Assimilationsprozeß unterstützt, andererseits Schutz gegen die Entwickelung schädigender Bakterien gewährt.

2) Der Milchsäureprozeß ist verbunden mit einer Spaltung des Pflanzeneiweißes, nicht sowohl durch die Wirkung der Säure an und für sich, als durch die enzymatische Wirkung der Milchsäurebakterien während deren Entwickelung. Es wird damit dem Bedürfnisse der Hefe an assimilierbaren stickstoffhaltigen Nährstoffen (Amiden) vorgearbeitet.

Verf. schildert seine Bestrebungen zur weiteren Ausgestaltung des Säuerungsprozesses und dessen große Bedeutung für das Gedeihen der Hefe. Anfang der achtziger Jahre machte er die Beobachtung, daß monatelang auf Eis lagernde Bierhefe ihre Gärfähigkeit vollkommen eingebüßt hatte und in den flüssigen Zustand übergegangen war. Das Produkt hatte einen Teil des koagulierbaren Eiweißes verloren und förderte selbst in sehr geringen Mengen die Gärung ganz außerordentlich. Diese Beobachtung bildete die Grundlage eines neuen Gärverfahrens für Melasse und stärkehaltige Materialien. Die Wirkung des aus Hefe erhaltenen Produktes, welches in konzentriertem Zustand als „Bauerscher Extrakt" in den Handel kam, ist teilweise auf eine noch nicht isolierte Substanz organischer Natur zurückzuführen, welche die Enzymtätigkeit beeinflußt.

B. macht im weiteren Verlauf seiner Ausführungen Mitteilung von der technischen Vervollkommnung seines Verfahrens, das durch die völlige Aufgabe des physiologischen Milchsäureprozesses und Ersatz der Milchsäure durch Schwefelsäure eine weitere Verbesserung erfuhr. „Die Reinheit der Gärung, die Verbilligung des Betriebes, die Höhe und Gleichmäßigkeit der Ausbeute, verbunden mit einer besseren Qualität der Schlempe, waren wohl die ausschlaggebenden Gründe, daß nunmehr die meisten der mit Extrakt arbeitenden Brennereien zu dem Schwefelsäurebetrieb übergegangen sind."

Schließlich unterzieht Verf. die übrigen, teilweise unter Patentschutz stehenden Verfahren zur Umgehung des Milchsäureprozesses bei der Hefebereitung einer kritischen Besprechung. Es gehören hierher das Effrontsche Akklimatisationsverfahren — Anwendung von Flußsäure und einer an diese gewöhnten Hefezüchtung — und das Verfahren von Bücheler, welcher ebenfalls Schwefelsäure anwendet, jedoch nur in solchen Mengen, daß lediglich die in der Maische enthaltenen gebundenen organischen Säuren in Freiheit gesetzt werden, dagegen keine freie Schwefelsäure im Ueberschuß vorhanden ist. Verf. ist jedoch der Ansicht, daß geringe Mengen freier Schwefelsäure der Gärung nicht schädlich, sondern förderlich sind, und daß die von Bücheler zur Erkennung der freien Schwefelsäure empfohlene Methylviolettreaktion als unzuverlässig anzusehen ist.

Vogel (Bromberg).

Henneberg, W., und Ellrodt, Vergleich der Revisionsbefunde und der bakteriologischen Untersuchungen in 11 Kartoffelbrennereien. Ein Beitrag zur Kenntnis der Infektionsarten und Infektionsquellen in Kartoffelbrennereien. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1907. No. 25—28.)

Die Untersuchungen wurden in der Weise ausgeführt, daß Ellrodt bei Gelegenheit seiner Betriebsrevisionen von den verschiedensten Stellen vorschriftsmäßig Maischeproben oder dergl. entnahm und dem technisch-wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin einsandte. Hier wurden sie gleich nach Ankunft durch Henneberg bakteriologisch untersucht. Es sollte vor allem außer den Infektionsarten und Infektionsquellen festgestellt werden, ob die Bakterien in den Brennereimaischen schädlich sein können oder ob sie sich nur sekundär in schlecht vergärenden Maischen einfinden. Betriebsbefund und bakteriologischer Befund mußten zu diesem Zweck genau verglichen werden. Bisher wurde dies an 11 beliebigen Brennereien der verschiedensten Gegenden ausgeführt. Im folgenden mögen die wichtigsten Befunde zusammengestellt sein, im übrigen muß auf die ausführliche Mitteilung verwiesen werden.

Brennerei I. Der Revisionsbefund war sehr gut. Die Säurezunahme in der reifen, vergorenen Maische betrug 0,2 ^{0} (d. h. 20 ccm Maische = 0,2 ccm Normalnatronlauge, Lackmus als Indikator). Bakteriologischer Befund: Die Hefenmaische war völlig rein. Die süße, d. h. unvergorene Maische enthielt eine geringe Infektion von 2 „wilden" Milchsäurebacillenarten: B. Beijerincki neben einer kurzzelligen Art (als Art „a" vorläufig bezeichnet). In der vergorenen Maische fand sich eine mäßig starke Infektion durch B. Beijerincki. Als Infektionsquelle ist hier also der Vormaischbottich oder die Maischleitung anzusehen.

Brennerei II. Der Revisionsbefund war gut. Im Gärbottich ließ sich das Wasser, das sich bei der Reinigung des Bottichs in einer Vertiefung des Bodens ansammelte, nicht entfernen. Die Säurezunahme in der Maische betrug 0,1°. Bakteriologischer Befund: Die Hefenmaische erwies sich als rein. Die letzte Maische aus dem Vormaischbottich, mit Spülwasser vermengt, enthielt eine starke Infektion von Kahmhefe und 3 Arten „wilder“ Milchsäurebakterien. Das Wasser aus der Bodenvertiefung des Gärbottichs zeigte eine äußerst starke Infektion von Kahmhefe, Torula-, Apiculatus-Hefe und 4 Arten „wilder“ Milchsäurebakterien. Die süße Maische aus dem Gärbottich enthielt wenig B. Beijerincki. Die vergorene Maische hatte dagegen eine äußerst starke Infektion durch dieselbe Art. Als Infektionsquelle ist also das Spülwasser des Vormaischbottichs anzusehen, das von Stellen, die mit Malzstaub oder Maischteilchen bedeckt waren, die der Erhitzung beim Verzuckern entgingen, Infektionskeime in großen Massen in die nach der Verzuckerung abgekühlte Maische einbrachte. Von allen genannten Infektionsorganismen kam hier nur der B. Beijerincki in der Maische zur üppigen Vermehrung. Da letztere aber offenbar erst nach der Gärung stattgefunden hatte, war keine Schädigung zu bemerken.

Brennerei III. Der Holzdeckel des Hefengefäßes wies bei der Revision stark verfaulte Stellen auf, von denen das Kondenswasser in die säuernde Maische tropfte. Die Hefemaische wurde nach Beendigung der Säuerung auf 75° C aufgewärmt. Die Revisionsbefunde waren sonst gut. Bakteriologischer Befund: Die Holzprobe enthielt neben Heubacillen „wilde“ Milchsäurebacillen. Erstere kommen in sauren Maischen nicht zur Entwickelung, letztere werden durch Erhitzen auf 75° C abgetötet. Eine Schädigung war also durch das faule Holz des Deckels nicht eingetreten.

Brennerei IV. Es wurde mit Schwefelsäure (nicht durch den B. Delbrücki) die Hefenmaische angesäuert. Die Betriebsführung war gut. Die Maischleitung war infolge zahlreich vorhandener Knierohre nicht vorschriftsmäßig in genügender Weise zu reinigen. In der reifen (vergorenen) Maische war eine Säurezunahme von 0,4° festzustellen, die Vergärung war von 21,5° Bllg. bis 1,4° vorgeschritten und der Alkoholgehalt betrug 10,8 Vol.-Proz. Bakteriologischer Befund: Es fanden sich Infektionsorganismen nur in der reifen Maische vor, und zwar sehr wenig Exiguus-Hefe neben sehr viel B. Beijerincki und noch 2 anderen „wilden“ Milchsäurebakterienarten. Als Infektionsquelle ist also die Maischleitung anzusehen. Die Infektion gelangte aber erst am Ende oder nach der Vergärung der Maische zur üppigen Entwickelung, so daß sie nicht mehr schädigen konnte.

Brennerei V. Bei der Betriebsrevision war das ziemlich erheblich verschimmelte Malz und der nur schwer zu reinigende Vormaischbottich zu beanstanden. Die Vergärung war von 22° Bllg. nur bis 2° vorgeschritten, der Alkoholgehalt war 11,1 Vol.-Proz. bei einer Säurezunahme von 0,25°. Bakteriologischer Befund: Die reife Hefenmaische war durch Kahmhefe und „wilde“ Milchsäurebacillen in geringem Grade infiziert. Die Maische im Vormaischbottich wies 2 Arten „wilder“ Milchsäurebakterien auf. Die reife Maische enthielt eine äußerst starke Infektion durch 4 Arten der gleichen Gruppe. Als Infektionsquelle muß demnach vor allem der Vormaischbottich angesehen werden.

Brennerei VI. Es wurde hier Ameisensäure neben der Pilz-

milchsäuerung angewandt. Bei der Revision wurde eine ziemlich große Unsauberkeit im Betrieb festgestellt, da z. B. die Maischleitung sehr wenig gesäubert war. Die Säurezunahme in der reifen Maische betrug 0,35°. Bakteriologischer Befund: Die reife Hefenmaische erwies sich als rein. Die süße Maische im Vormaischbottich enthielt eine reichlich große Infektion durch eine „wilde" Milchsäurebakterienart. Aeußerst stark war die Infektion in der Maischleitung. Es konnten hier Penicillium, 2 Arten Kahmhefen, elliptische Hefe, Torula-Hefe, Essig- und Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Die süße Maische im Gärbottich enthielt in reichlicher Menge 4 Arten „wilder" Milchsäurebakterien, doch fand sich nur eine dieser Arten (B. Beijerincki) in der reifen Maische in größerer Menge wieder. Als Infektionsquelle ist also der Vormaischbottich und die Maischleitung anzusehen. Auch hier schadete die Infektion nicht in bemerkbarem Grade.

Brennerei VII. Die Maischleitung war sehr unsauber. Die Vergärung war von 24° Bllg. bis 2° Bllg. vorgeschritten, der Gehalt an Alkohol betrug 12,2 Vol.-Proz. bei einer Säurezunahme von 0,3°. Der bakteriologische Befund wies nur in der reifen Maische eine äußerst starke Infektion von schädlichen, d. h. Essigsäure neben Milchsäure bildenden „wilden" Milchsäurebakterienarten auf. Als Infektionsquelle kommt nur die Maischleitung in Betracht. Die schlechte Vergärung muß hier auf den zahlreich vorhandenen, schädlichen Milchsäurebacillus zurückgeführt werden.

Brennerei VIII. Es wurde nach dem Schwefelsäureverfahren gearbeitet. Die Betriebsrevision ergab große Unsauberkeit in der Maischleitung und im Gärbottich. Die Säurezunahme in der reifen Maische betrug 0,5° und dementsprechend war die Vergärung eine schlechte (von 23,5° Bllg. bis 2,5° Bllg.), der Alkoholgehalt war 11,7 Vol.-Proz. Bakteriologischer Befund: In der reifen Hefenmaische war eine sehr geringe Bakterieninfektion zu beobachten. Die reife Maische war sehr stark mit wilden Milchsäurebakterien infiziert. Auch hier ist wieder die unsaubere Maischleitung die Infektionsquelle.

Brennerei IX. Nach dem Revisionsbefunde war die Betriebsführung unvorschriftsmäßig und sehr unsauber. Die innere Seite der Hefengefäße war mit einem dichten Schimmelrasen bedeckt. Die säuernde Maische wurde nicht bei 50° C vorschriftsmäßig gehalten, sondern kühlte sich bis auf 38° C ab. Maischleitung und Maischbottich waren stark verunreinigt. Die Vergärung war von 20° Bllg. nur bis 3,5° Bllg. vorgeschritten, der Alkoholgehalt war nur 8 Vol.-Proz. bei 0,4° Säurezunahme. Bakteriologischer Befund: Die reife Hefenmaische war nur wenig infiziert, was sich durch ein Erhitzen des Hefengutes nach Beendigung der Säuerung erklären läßt. Sowohl im Maischbottisch wie im Gärbottich war eine sehr starke Infektion durch 4 Arten „wilder" Milchsäurebacillen nachzuweisen. Während sich in der Maischleitung sehr zahlreich Torula- und Kahmhefe, Essigbakterien und „wilde" Milchsäurebakterien auffinden ließen, war in der reifen, vergorenen Maische vor allem B. Beijerincki neben der kleinzelligen Milchsäurebakterienart „a" vorherrschend. Es waren in dieser Brennerei also 3 Infektionsquellen (Vormaischbottich, Maischleitung und Gärbottich) vorhanden.

Brennerei X. Bei der Revision ergab sich, daß eine spontane Säuerung des Hefengutes vorgenommen war. Die Betriebsführung war auch sonst unvorschriftsmäßig. Die Maischleitung und die Gärbottiche

waren in unsauberem Zustand. Die bakteriologischen Befunde ließen eine äußerst starke Infektion durch 2 Arten „wilder“ Milchsäurebacillen in der reifen Hefemaische erkennen. Im Vormaischbottich, in der Maischleitung und schließlich im Gärbottich kamen neue Infektionen hinzu, so daß in der reifen Maische 4 Arten „wilder“ Milchsäurebacillen (B. Beijerincki, Flockenmilchsäurebakterien, Schleimmilchsäurebakterien und die kleinzellige Art a) nachgewiesen werden konnten. Die Infektion hatte eine Säurezunahme von 1,3° und dadurch natürlich die schlechte Vergärung von 20° Bllg. bis 3,8° Bllg. verursacht. Der Alkoholgehalt betrug 10,2 Vol.-Proz.

Brennerei XI. Die Betriebsrevision stellte auch hier eine gänzlich falsche Säuerungsweise fest, da das zum Ansäuern dienende Hefengut der Maische vor dem Verzuckern zugesetzt wurde, so daß die Kulturmilchsäurebacillen durch die Verzuckerungstemperatur getötet oder wenigstens stark abgeschwächt wurden. Das Malz war ferner nur bis zu 80 Proz. gekeimt. Maischleitung und die Bottiche waren sehr unsauber. Die Säurezunahme war in der reifen Maische 2° und die Vergärung von 18° Bllg. nur bis 5° vorgeschritten. Der Alkoholgehalt war nur 6,6 Vol.-Proz. Die bakteriologische Untersuchung ließ eine sehr starke Infektion von „wilden“ Milchsäurebacillen in der Hefenmaische erkennen. Die hier vorherrschende Art „c“ fand sich neben 2 anderen im Vormaischbottich und ohne letztere im Gärbottich wieder. Als Infektionsquellen müssen daher Hefenmaische, Vormaischbottich und Gärbottich angesehen werden. Die aus der Hefenmaische stammende Milchsäurebakterienart war offenbar die Hauptursache der schlechten Vergärung.

Zusammenstellung der wichtigsten Ergebnisse.

A. Infektionsorganismen.

Es wurden beobachtet: von Schimmelpilzen: Mucor, Penicillium und Dematium; von Hefen 2 Arten Kahmhefen, eine elliptische Heferasse, Torula-, Exiguus- und Apiculatus-Hefe und von Bakterien u. a. Heubacillen, Essigbakterien und außer dem Kulturmilchsäurebacillus etwa 13 Arten „wilder“ Milchsäurebacillen. Es waren dies Streptokokken, Pediokokken, B. Beijerincki, Flockenmilchsäurebakterien, eine Art „a“ mit kleinzelligen, kurzen Ketten, eine Art „b“ mit größeren Zellen, eine Art „c“ mit ähnlichen Formen, wie der B. Delbrücki, doch mit niedrigeren Wachstumstemperaturen, eine schädliche, d. h. neben Milchsäure auch Essigsäure bildende Art, Schleimmilchsäurebakterien, eine Art mit großen Zellen in kurzen Ketten, eine Art, im Aussehen ähnlich wie Essigbakterien, eine dem B. Leichmanni ähnliche Art und schließlich eine kleine Art mit einzelnen Zellen.

Schimmelpilze und wilde Hefen treten weniger häufig auf und sind in der Brennerei gänzlich unschädlich, da sie in der gärenden Maische nicht zur Entwickelung kommen können.

Die Milchsäurebakterien sind die eigentlichen Konkurrenten der Hefe, sie fanden sich in 33 Proben verschiedener Stellen aus 11 Brennereien.

Unter den wilden Milchsäurebakterien ist B. Beijerincki am häufigsten, da er in 18 Proben in 9 Brennereien beobachtet wurde und zwar 8mal in der reifen, d. h. vergorenen Maische. Ihm steht in der Häufigkeit die Art „a“ nahe: 19 Proben in 7 Brennereien, darunter nur 3mal in der reifen Maische.

Flockenmilchsäurebakterien (vom Verf. so genannt, weil sie die Hefezellen zusammenkleben und dadurch die gefürchtete Flockenbildung der Preßhefe hervorrufen) fanden sich in 6 Proben in 5 Brennereien, und zwar 3mal in der reifen Maische.

Die übrigen Arten waren seltener zu finden.

In 2 Fällen kamen nebeneinander in der reifen Maische 4 Milchsäurebakterienarten vor.

Der B. *Beijerincki* und der fast ebenso häufige *Bacillus* a ist nicht oder nur selten schädlich. Andere Arten, die neben Milchsäure noch Essigsäure erzeugen, wie z. B. die Art c (Brennerei XI) und eine Art aus der Brennerei VII, müssen dagegen als arge Schädlinge angesehen werden.

Die bakteriologischen Befunde stimmen stets mit den von Ellrodt festgestellten Revisionsbefunden überein.

B. *Verteilung der Infektion.*

Von 10 Proben der *reifen Hefenmaische* waren 5 infiziert, was sehr bemerkenswert ist, da bei genauer Arbeit nach *Delbrücks* Vorschriften hier ohne jede Mühe eine schädliche Infektion vermieden werden kann.

Von 9 Proben aus dem *Vormaischbottich* waren 5 infiziert. Wie Verf. früher zeigte, werden die Milchsäurebakterien durch die Verzuckerungstemperatur in der üblichen Zeit abgetötet oder wenigstens unschädlich gemacht. Aus dem Befund in der Brennerei II kann gefolgert werden, daß hier eine Infektion vor allem durch das Nachspülwasser, das nicht erhitzte Maischeteilchen und Malzstaub, also ungeheure Massen von „Getreidebakterien", in die abgekühlte, verzuckerte Maische hineinspült, zu stande kommt.

Sämtliche 7 Proben der süßen, d. h. unvergorenen Maische aus dem *Gärbottich* und sämtliche 10 Proben der reifen, d. h. vergorenen Maische erwiesen sich als mehr oder weniger stark infiziert. Die schwer in ausreichender Weise zu reinigende Maischleitung, welche die Maische vom Vormaischbottich in den Gärbottich führt, dürfte wohl ohne Zweifel *eine sehr häufige Infektionsquelle* sein.

C. *Die Infektion der Maische.*

In den untersuchten Fällen war die Infektion der Maische 1mal auf die Hefenmaische, 1mal auf den Vormaischbottich, 3mal auf die Maischleitung und 5mal auf unsaubere Gärbottichwandungen zurückzuführen. Aus der Tatsache, daß sämtliche näher untersuchten 10 Brennereien mehr oder weniger stark infizierte Maische aufwiesen, darf keineswegs geschlossen werden, daß hier die Vermeidung einer Infektion praktisch unmöglich ist. Die *Maische* ist, wie Verf. oftmals in der Versuchsbrennerei des Instituts beobachten konnte, bei genügender Sauberkeit der Maischleitung, des Gärbottichs und der Kühlvorrichtung *rein* (im Sinne der Praxis) zu erhalten. *Die Infektion ist oft unschädlich*, denn der Verlust an Alkohol, der durch Umwandlung des Zuckers in Milchsäure entsteht, ist nur sehr gering. Sobald aber *die Säurezunahme größer ist*, tritt eine Abschwächung der Hefe und dadurch ein größerer Alkoholverlust ein. Dies ist der Fall, wie Verf. früher feststellte, wenn die Bakterien frühzeitig zur Entwickelung kommen oder wenn es sich um schädliche Arten handelt (Brennerei VII, VIII, X).

Außer dieser *primären Infektion* kann auch noch eine *sekundäre* vorkommen. Wenn die Vergärung der Maische aus irgend einem

Grunde, z. B. infolge schlechter Verzuckerung, zu langsam oder nicht in genügendem Grade vor sich geht, kommen als Folgeerscheinung „wilde" Milchsäurebakterien in den meisten Fällen zur üppigen Entwickelung. Natürlich können beide Fälle auch gleichzeitig auftreten. Nur eine genaue Betriebsrevision kann jedesmal entscheiden, ob die Bakterien Ursache oder Folge schlechter Vergärung sind. Beides kann, wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, vorkommen.

Wenn die Vergärung gut ist und trotzdem eine starke Infektion zu bemerken ist, so sind die Bakterien erst dann, als sie nicht mehr schaden konnten, d. h. also am Ende oder nach Beendigung der Vergärung aufgetreten, oder sie gehören zu den unschädlichen Arten (Brennerei I, II, IV, VI). Meist ist in diesen Fällen B. Beijerincki aufzufinden, wie überhaupt diese Art wohl in keiner Brennerei fehlt.

Die unzähligen dem Institut eingesandten Proben aus Brennereien haben bei der bakteriologischen Untersuchung durch den Verf. früher schon die gleichen Befunde aufgewiesen: die Hauptschädlinge der Kartoffel- und Kornbrennereien und der Hefenfabriken sind die „wilden" Milchsäurebakterien, da sie genau dieselben Entwickelungsbedingungen wie die Kulturhefen haben. Selbst bei Gegenwart von 10—12 Vol.-Proz. Alkohol, wenn durch Hefegärung diese Menge allmählich entsteht, vermögen sie sich noch zu vermehren, so daß die Kulturhefe allein sich ihrer nicht erwehren kann. Das einzige Mittel, sie zu unterdrücken, ist eine genügend starke, von vornherein vorhandene, d. h. absichtlich eingeleitete Säuerung. Die natürliche Säure des Kartoffelsaftes (0,2—0,5 °) verhindert dagegen nicht ihre Vermehrung. Henneberg (Charlottenburg).

Hill, Fritz, Die Bakterienflora in Bierpressionen. [Inaug.-Diss., Bern.] 8°. 67 pp. mit 1 Taf. Gießen 1906.

Die in Steigröhren und Schläuchen der Bierpressionen vorkommende Bakterienflora ist auch bei mikroskopisch sauberem Zustande eine relativ reichhaltige.

Der in ihnen angesetzte Morast besteht zum größten Teile aus Hefezellen, und zwar wurde ausschließlich Saccharomyces cerevisiae gefunden. Obwohl diese isolierte Hefe in ihren Eigenschaften wie Gärfähigkeit und Pathogenitätswirkung abgeschwächt war, so erscheint ihre Anwesenheit insofern als nachteilig, als sie einerseits als Ansiedelungspunkt für Bakterien geeignet ist, andererseits, in großen Mengen vorhanden, nachteilig auf den tierischen Organismus wirkt.

Die gefundenen Mikroorganismen hatten keine schweren pathogenen Eigenschaften.

Als am meisten tierpathogen erwiesen sich Staphylococcus albus, Proteus vulgaris, Bacterium fluorescens liquefaciens, Bacterium acidi lactici und Bacterium coli.

Die Untersuchungen ergaben im Sommer Hefe, Schimmelpilze, Stäbchen und wenig Kokken; im Winter Hefe, weniger Stäbchen und viel Kokken.

Zur Trennung der Hefe von Bakterien erwies sich als der am meisten geeignete Nährboden Bierwürze, weil auf ihm das Wachstum der Hefen gegenüber dem der Bakterie so sehr beschleunigt wird.

Wegen ihres geringen Gehalts an pathogenen Bakterien sind die Büffetleitungen den Kellerleitungen vorzuziehen.

21 Literaturangaben vervollständigen die Arbeit. Die Tafel enthält 5 Figuren. E. Roth (Halle a. S.).

de Kruyff, E., Les bactéries hydrolysant et oxydant les graisses. (Bull. du départ. de l'agricult. aux Indes néerland. No. IX. [Micro-Biologie. III]. Buitenzorg 1907.)

Im Anschluß an die betreffende Arbeit Rubners gelangten die an der Fettzersetzung im Boden beteiligten Bakterien zu näherer Untersuchung. Es wurde nachgewiesen, daß hydrolytische Spaltung der Fette und Oxydation der freiwerdenden Säuren stets Hand in Hand gehen. Die wirksamen Arten bilden das (physiologische) Genus Lipobacter. Von den 9 isolierten (mit Nummern bezeichneten) Arten sind 4 verflüssigende, bezw. nichtverflüssigende Fluoreszenten, Lipobacter No. 4 ist ein gelber, nichtverflüssigender Micrococcus, 2 Arten scheinen, soviel aus den sehr kurzen Beschreibungen zu ersehen ist, der Gruppe des Bact. pneumoniae anzugehören. Zur Anhäufung (aus Erde, Wasser, Exkrementen u. s. w.) dient folgende Lösung: Aq. dest. 100, NH_4Cl (das mit gleichbleibendem Effekt durch KNO_3 oder Pepton ersetzt werden kann) 0,1, K_2HPO_4 0,05, anorganische Salze in Spuren; nach dem Sterilisieren wird 0,3—0,5 Proz. eines Glycerides (Butyrin, Tripalmitin, Tristearin, Triolein oder Elaidin) in feinster Verteilung hinzugefügt. Statt der Glyceride erwiesen sich auch die freien Fettsäuren brauchbar. Die Emulsion befindet sich in sehr flacher Schicht im Erlenmeyer-Kolben und wird nach der Impfung bei 37° aufbewahrt. Nach 2—3 Tagen ist die Flüssigkeit stark getrübt, und die Fetttröpfchen zeigen einen dichten Bakterienbelag. Nach einmaliger Ueberimpfung in frische Lösung sind nur noch Lipobacter-Arten nachweisbar. Die Isolierung und gleichzeitige Prüfung in Bezug auf Befähigung zur Spaltung und Oxydation der Fette erfolgt entweder auf Agarplatten, zu deren Bereitung die angegebene Lösung (mit Butyrin oder Triolein) nach Vermischung mit 1½—2 Proz. Agar dient, oder man verwendet Fleischagar, dem ein Zusatz von 0,5 Proz. Butyrin gegeben wurde. Im Butyrinagar tritt um die spaltenden Kolonieen ein klares Diffusionsfeld auf. Wird Triolein verwendet, so umgeben sich, wenn als Stickstoffquelle KNO_3 benutzt wurde, die zur Nitratreaktion befähigten Lipobacter-Kolonieen zunächst mit einem Kranz von Kristallnadeln, die vermutlich aus Elaidinsäure bestehen und später infolge von Oxydation verschwinden. Fehlt das Nitratreduktionsvermögen oder kamen NH_4Cl-Trioleinplatten zur Anwendung, so erscheinen die unter der Kolonie gelegenen Oleintröpfchen zunächst vollständig weiß, infolge des in ihrem Innern stattfindenden Bakterienwachstums; später (bei einsetzender Oxydation) findet Aufhellung statt. Einige beigegebene Photogramme veranschaulichen das Aussehen der Kolonieen und deren Umgebung. Die Spaltung wurde in allen Fällen durch eine Lipase bewirkt, deren Bildung durch Zugabe von Glukose oder Glycerin, nicht aber durch Pepton gehemmt wird. Bei der Oxydation konnten keine Zwischenprodukte nachgewiesen werden, sie scheint direkt zu CO_2 und H_2O zu führen.

In größeren Mengen der zur Anhäufung benutzten Lösung wurden auch einige quantitative Versuche mit Reinkulturen ausgeführt. Eine Vorliebe für bestimmte Glyceride war nicht wahrnehmbar. Außer den bereits genannten Glyceriden und deren Säuren gelangte auch Bienenwachs zur Verarbeitung. Innerhalb 12 Tagen wurden die zugegebenen Fettmengen von manchen Arten nahezu vollständig gespalten und bis zur Hälfte oxydiert.

Sporenbildende Lipobacter-Arten konnten nicht gefunden werden.

Verf. betont, daß „keine der gewöhnlichen Bodenbakterien zur Verwertung der in Wasser unlöslichen Fettsäuren befähigt" sei, eine Ansicht, die indessen, weder mit den Beobachtungen anderer Autoren noch auch mit der vom Verf. selbst nachgewiesenen Identität des Lipobacter No. 9 mit Bact. fluorescens im Einklang steht. Uebrigens dürften wohl auch im Boden, wie in Butter und Käse, neben den Bakterien verschiedene Schimmelpilze als Fettzersetzer von nicht unerheblicher Bedeutung sein.

Löhnis (Leipzig).

Vorhees, E. B. and **Lipman, J. G.**, A review of investigations in soil bacteriology. (U. S. Departm. of Agriculture. Office of Experiment Stations. Bull. 194. Issued Oct. 26. 1907. 108 pp.)

Es werden nacheinander besprochen die älteren und die neueren bodenbakteriologischen Untersuchungsmethoden, die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen, die Umsetzung der Mineralbestandteile des Bodens, der Abbau der organischen Stickstoffverbindungen und speziell die Ammoniakbildung, von den Oxydationsprozessen ausführlich die Nitrifikation, von den Reduktionsprozessen die Denitrifikation, ferner die durch Bakterien bewirkte Synthese organischer Stickstoffverbindungen und schließlich mit größter Ausführlichkeit die Fixierung des elementaren Stickstoffs. Wie wir den Verff. schon manche Förderung der Bodenbakteriologie zu verdanken haben, so wird auch diese sorgfältig durchgeführte, mit reicher Literaturübersicht ausgestattete „Review" sicher Vielen willkommen sein. Aber auch dem mit dem Gegenstande vollständig vertrauten Forscher mag immer noch diese und jene Mitteilung begegnen, die ihm bisher unbekannt blieb. Namentlich dürfte dies für manche nicht uninteressante, in verschiedenen Bulletins und Reports amerikanischer Versuchsstationen veröffentlichte Beobachtungen gelten.

Löhnis (Leipzig).

Baessler, Gründüngungsversuche. (Jahresbericht über die Tätigkeit der agrikulturchemischen Versuchs- und Samenkontrollstation Köslin 1906.)

Verf. bringt weitere Beiträge zu seinen schon seit mehreren Jahren im Gange befindlichen Gründüngungsversuchen, mit welchen der Zweck verfolgt wird, die Ausnutzung genau bekannter Mengen von Gründüngungsstickstoff unter verschiedenen Verhältnissen des Bodens und der klimatischen Einflüsse des Versuchsortes durch die Nachfrüchte festzustellen. Das außerordentlich umfangreiche, auf 8 Versuchsfeldern mit 250 Einzelteilstücken unter den Verhältnissen der landwirtschaftlichen Praxis gewonnene Material bringt eine solche Fülle wertvoller Aufschlüsse, daß hier nur die wichtigsten Ergebnisse Erwähnung finden können. (Siehe auch diese Zeitschrift Bd. XVIII. p. 354.)

Die Gründüngungen veranlaßten auf Jahre hinaus Mehrerträge bei den nachgebauten Früchten, welche selbst bei der 5. Nachfrucht noch deutlich, wenn auch nur schwach hervortraten. Von 100 Teilen des mit der Gründüngung im Jahre 1902 untergebrachten Stickstoffs wurden durch die 5. Nachfrucht (Kartoffeln im Jahre 1906) im Mittel aller Versuche noch 1,94 Teile zurückgewonnen. Die im Herbst flach (10 bis 15 cm) untergepflügte Leguminosenmasse war im allgemeinen der tiefer (20—25 cm) untergebrachten an Wirksamkeit überlegen. Bei der im Frühjahr eingepflügten Gründüngung traten in dieser Richtung keine deutlichen Unterschiede hervor.

Ueber die praktisch wichtige Frage, ob die Gründüngungspflanzen

im Herbst oder Frühjahr unterzubringen sind, äußert sich Verf. in folgender Weise: Die Ergebnisse sprechen mehr zu Gunsten einer Herbst- als Frühjahrsdüngung, doch sind die Unterschiede nicht so groß, um jene besonders empfehlen zu sollen. Es werden in der landwirtschaftlichen Praxis häufig Fälle vorkommen, wo man ein Unterbringen der Gründüngung im Frühjahr bevorzugen wird. Handelt es sich beispielsweise um dicht bestandene, gut geschlossene Seradellafelder, welche für Gründüngung zu Sommerfrüchten, insbesondere Kartoffeln bestimmt sind, so wird man gut tun, an das Unterbringen erst im Frühjahr zu gehen, und zwar nicht nur deshalb, weil sich dann das Umpflügen leichter bewältigen läßt wie im Herbste, sondern auch, weil durch die dichte Bodenbedeckung eine ganz vorzügliche Ackergare veranlaßt wird.

Die Ausnutzung der Gründüngung durch die Nachfrüchte ist eine sehr ungleiche, wohl hauptsächlich infolge der Tätigkeit gewissen Gruppen von Mikroorganismen im Boden. In der Mehrzahl aller Fälle trat bei der ersten Nachfrucht eine Verwertung des Gründüngerstickstoffs ein, welche sich zwischen 20—30 Proz. der in den Boden gebrachten Gesamtmenge bewegte. Bei der zweiten Nachfrucht war der Ausnutzungskoeffizient des Gründüngerstickstoffs auf rund $^1/_5$ gesunken und bei der dritten Nachfrucht war mit einer noch weiter herabgegangenen Verwertung des Gründüngerstickstoffs zu rechnen.

„Jedenfalls steht es außer allem Zweifel, daß die Wirkungsdauer einer Gründüngung auch unter für die baldige Umsetzung und Ausnutzung des untergebrachten Stickstoffkapitals günstigen Bedingungen, auf wenigstens 3 Jahre zu veranschlagen ist.“

Der Gründüngerstickstoff wurde auf 6 Versuchsfeldern von der ersten Nachfrucht im Mittel zu 25,9 Proz. ausgenutzt. Die Verwertung des Chilisalpeterstickstoffs betrug unter den gleichen Verhältnissen im besten Falle 68 Proz. Auf schwerem Boden wird jedoch der Salpeter für gewöhnlich bessere Erfolge bringen, während sich auf sehr leichten Böden unter Umständen das Wirkungsverhältnis noch zu Gunsten des Gründüngers verschieben kann wegen der günstigen Beeinflussung der Wasserversorgung der Feldfrüchte.

Die vorteilhaften Nebenwirkungen der Gründüngung, welche vornehmlich in der Erschließung des Untergrundes durch die tiefwurzelnden Leguminosen und in der Regelung der Wasserversorgung besonders auf den leichten Böden bestehen, hat Verf. ebenfalls durch Versuche zahlenmäßig festzustellen gesucht. Als Ausdruck für diese Nebenwirkungen ergab sich im Durchschnitt die Zahl 34,7, also rund $^1/_3$ des Gesamterfolges der Gründüngung. Vogel (Bromberg).

Hoffmann, Tage der Gründüngung. (Illustr. landw. Zeitung. 1907. No. 58.)

Verf. betont, daß der leitende Gesichtspunkt bei der Ausübung der Gründüngung das kostenfreie Einfangen des Luftstickstoffs bleiben müsse, und daß die bodenverbessernden Eigenschaften der grün oder im gefrorenen Zustand eingepflügten Pflanzen erst in zweiter Linie zu bewerten sind.

Die meisten Chancen, große Mengen von Luftstickstoff zu sammeln, wird man beim Anbau von Gründüngungspflanzen als Hauptfrucht haben. Durch einen guten Lupinenbestand können unter Umständen bis 200 kg Stickstoff pro Hektar, also eine etwa 12 dz Chilesalpeter entsprechende Menge in den Boden gebracht werden, und daneben bis 500 dz grüne

Pflanzenmasse, die durch Humusbildung, sowie Lockerung und Aufschließung des Bodens beträchtliche Vorteile bringen kann.

Zur Untersaat in Getreide eignen sich am besten Seradella und 2-jährige Kleepflanzen. Diese Schmetterlingsblütler entwickeln sich nur langsam, entziehen daher der Hauptfrucht nicht allzuviel Nährstoffe und sind beim Ernten des Getreides noch in einem Entwickelungsstadium, wo sie durch Mähmaschinen und Sensen nicht zu sehr geschädigt werden. Beim Zwischenfruchtbau ist dagegen eine schnellwüchsige Saat zu wählen. Als Stoppelfrüchte kommen in Frage Misch- oder Reinsaaten von blauen, gelben oder weißen Lupinen, Peluschken, eventuell Inkarnatklee auf den leichteren Böden und dort, wo erst im August gesät werden kann, sowie für die besseren Bodenklassen kleine Feldbohnen, Wicken und Erbsen.

Verf. weist noch auf eine Reihe praktisch wichtiger Faktoren hin, deren Beachtung für das Gelingen der Gründüngung von Bedeutung ist.

Vogel (Bromberg).

Krüger und **Heinze**, Untersuchungen über das Wesen der Brache. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXVI. 1907. p. 383.)

Die Verff. weisen darauf hin, daß die Wiederaufnahme der Studien über die Brache mit besonderer Berücksichtigung der mikrobiologischen Seite der Frage volle Berechtigung habe, und daß vor allem über die folgenden Punkte Klarheit zu schaffen wäre:

1) Formen und Mengen der Stickstoffverbindungen im gebrachten und ungebrachten Boden.

2) Bewirkt die Brache eine Veränderung der Mikroorganismenflora im Boden nach Zahl und Art?

3) Sind im Boden, besonders im gebrachten, Schimmelpilze vorhanden, die den freien Stickstoff der Luft assimilieren?

4) Welche Organismen bewirken die Ackergare?

5) Lassen sich solche als nützlich oder schädlich erkannte Vorgänge im Boden durch wirtschaftliche Maßnahmen beeinflussen, d. h. kann man dieselben fördern oder hemmen?

Ein näheres Eindringen in diese Fragen kann nur unter Zuhilfenahme von Feldversuchen erfolgen, bei welchen die Brache mit Fruchtfolgen verschiedener Art unter den verschiedensten Bedingungen abwechselt. Verff. stand ein ziemlich reichhaltiges Material für die Bracheforschungen zu Gebote, da die Versuchswirtschaft Lauchstädt 2 Rotationen mit Brache besitzt und auf dem neu angelegten bakteriologischen Versuchsfelde ebenfalls 2 Fruchtfolgen mit Brache vertreten sind. Ferner ist noch ein Feld für bakteriologische Versuche vorhanden (bakteriologischer Garten), auf dem neben Fragen über Bodenmüdigkeit, Salpeterzersetzung etc. Versuche über den Einfluß verschiedener Behandlung des Bodens auf Organismengehalt und Fruchtbarkeit eingeleitet worden sind.

Das Untersuchungsverfahren selbst besteht einerseits in der Verfolgung der Wandlungen im Organismenbestand des Bodens, andererseits in der analytischen Feststellung der eingetretenen chemischen Umsetzungen. Verff. machen nähere Angaben über die für den Ausfall der Versuche so sehr wichtige Probenahme und über die in Anwendung gebrachte chemische Methodik. Die bakteriologische Untersuchung bezog sich vorwiegend auf die Ermittelung des Keimgehaltes des Bodens. Aus einer Reihe bei vergleichenden Vorversuchen erhaltener Zahlen durfte geschlossen werden, daß die benutzten Verfahren der Probenahme und der chemisch-biologischen Untersuchung zu be-

friedigenden Resultaten führten. Die in Betracht kommenden Fehlerquellen fanden entsprechende Berücksichtigung.

Die während eines längeren Zeitraumes häufiger wiederholte Untersuchung von Bodenproben der Bracheparzellen führte zu folgenden Ergebnissen:

1) Während des Brachprozesses nahm der Gehalt des Bodens an löslichen Stickstoffverbindungen zu, und zwar bestanden dieselben fast ausschließlich aus Salpeter. Es fand also eine lebhafte Nitrifikation statt. Der Gehalt an Salpeterstickstoff in Kilogramm pro Hektar betrug:

	Brache I	Brache II	Brache III
Vor Beginn der Brache	53	55	73
Nach Beendigung der Brache	138	140	170
Mithin Zunahme kg pro ha	85	85	97

2) Der Organismengehalt des Bodens erhöhte sich in allen 3 Fällen ganz erheblich nach der ersten Bearbeitung (Brachfurche), nahm dann aber allmählich wieder ab. Der Gehalt an Organismenkeimen stieg bei

	Brache I	Brache II	Brache III
von	11,0 Mill.	10,5 Mill.	10,1 Mill.
auf	22,2 „	26,9 „	20,6 „
Mithin Keimzunahme um	11,2 Mill.	16,4 Mill.	10,5 Mill.

3) Aus den Bestimmungen des Gesamtstickstoffs folgern die Verff. mit Vorbehalt: Scheinbar nahm auch der Gesamtstickstoff des Bodens während der Brache zu, doch bedürfen diese Ergebnisse noch der weiteren Bestätigung.

Auf den kleinen (je 9 qm großen) Parzellen des bakteriologischen Gartens sollte hauptsächlich die wichtige Frage entschieden werden, ob sich die geschilderten Verhältnisse durch willkürliche Eingriffe in bestimmter Richtung beeinflussen lassen. Die Parzellen wurden zu diesem Zwecke in verschiedener Weise bearbeitet und zum Teil mit Zusätzen von Formaldehyd, Karbolsäure, Schwefelkohlenstoff und Wasser versehen.

Die chemisch-bakteriologische Untersuchung ergab zunächst bezüglich des Organismengehaltes eine Bestätigung des bei den feldmäßigen Brachversuchen Festgestellten. Der Gehalt an gelatinewüchsigen Mikroben erfuhr durch den Brachprozeß eine Zunahme. Die übrigen Behandlungsweisen des Bodens hatten deutliche Aenderungen im Bakterienbestande zur Folge. Gehemmt wurde die Entwickelung der Bodenmikroorganismen dann, wenn der Boden unbearbeitet liegen blieb, oder wenn dem gebrachten Boden gewisse Stoffe (Formaldehyd, Karbolsäure und in gewissem Grade auch Schwefelkohlenstoff) zugeführt wurden. Begünstigt wurde die Bakterienvermehrung durch Bodenbearbeitung (Brache) und noch mehr durch Zufuhr von Wasser oder Schwefelkohlenstoff bei gleichzeitiger Brachbearbeitung.

Von Interesse war auch der Ausfall der Salpetersäurebestimmungen. Der Salpetergehalt war am niedrigsten bei dem gebrachten und gleichzeitig mit Schwefelkohlenstoff behandelten Boden, höher zeigte er sich selbst bei dem nicht behandelten Boden und am höchsten war er bei den gebrachten Parzellen ohne jede weitere Behandlung. Durch die Behandlung mit Schwefelkohlenstoff scheint also die Nitrifikation so gut wie ganz unterdrückt zu werden. Formaldehyd und Karbolsäure dagegen scheinen auf den Nitrifikationsvorgang nur geringen Einfluß auszuüben. Das Gesamtergebnis berechtigt jedenfalls zu dem bemerkenswerten Schluß, daß durch die Bearbeitung die Nitrifikation erhöht, durch Schwefelkohlenstoff völlig unterdrückt wird. Vogel (Bromberg).

Ternetz, Ueber die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze. (Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XLIV. Heft 3.)

Bei Versuchen, den Mykorhiza-Pilz der einheimischen Ericaceen zu isolieren, gewann die Verf. 8 verschiedene Pyknidenpilze, von denen 5 näher studiert und besonders auf stickstoffsammelnde Fähigkeiten geprüft worden sind. Die Pyknidenpilze sind aus jungen Ericaceenwurzeln auf künstlichen Substraten herangewachsen. Ihre Zugehörigkeit zu den endoyhyten Wurzelpilzen sollte durch Impfung von pilzfreien Pflänzchen mit Pyknosporen erbracht werden, die in dieser Richtung angestellten Versuche waren aber erfolglos, weil es nie gelang, pilzfreie Ericaceen auf festen Substraten zu ziehen, selbst wenn Samen und Kulturmedien in sorgfältigster Weise sterilisiert waren. Die Samenschalen enthielten in allen Fällen bereits Pilzhyphen, welche zur Mikorhiza-Bildung führten. Ein strikter Beweis für die Identität der isolierten Pyknidenpilze mit den Wurzelendophyten der Ericaceen konnte also nicht erbracht werden, doch darf aus dem konstanten Vorkommen stets derselben Pilze auf den Wurzeln der gleichen Pflanzenart wohl auf eine Kontaktsymbiose zwischen Wurzel und Pilz geschlossen werden.

Die näher studierten 5 Pyknidenpilze gehören sämtlich dem Genus Phoma an und sind (nach Feststellungen von G. Lindau und P. Hennings) von allen bisher auf Ericaceen gefundenen Pyknidenpilzen verschieden. Die Verf. gibt eine eingehende Schilderung der morphologischen und kulturellen Merkmale der vorläufig als neu anzusehenden Arten. Die konstatierten Verschiedenheiten ermöglichen zwar keine allgemeingültige Diagnose, aber doch immerhin eine Unterscheidung und nähere Charakterisierung der einzelnen Organismen. Von größerem Interesse ist das physiologische Verhalten der Pilze, vor allem ihre bereits erwähnte Fähigkeit, den Luftstickstoff zu assimilieren. Diese wichtige Funktion ist vielleicht für das Pflanzenwachstum auf Heidesand und Torfboden von Bedeutung, wo Azotobacter-Arten fehlen.

Die 5 Phoma-Arten sowie Aspergillus niger und Penicillium glaucum wurden unter den verschiedensten Bedingungen in stickstofffreien Nährlösungen kultiviert. Es zeigte sich, daß die Pyknidenpilze in solchen Nährsubstraten steril bleiben können unter Bedingungen, bei denen die Schimmelpilze noch reichlich Konidien bilden. Da aber die Größe der Stickstoffbindung von dem Eintritt der Fruktifikation abhängt, so wurde die Entstehung der Pykniden auf verschiedene Weise herbeizuführen gesucht. Es zeigte sich, daß reichliche Sauerstoffzufuhr (Durchlüftung der Kulturen) die Pyknidenbildung begünstigt, und daß auch die chemische Zusammensetzung der Nährlösung, vor allem ihr Gehalt an Phosphorsäure und Magnesia, die Fruchtkörperbildung beeinflußt. Steigende Gaben von Monokaliumphosphat (0,01—1,0 Proz.) förderten die Entstehung der Pykniden, Magnesiumsulfat wirkte umgekehrt.

Aus zahlreichen Analysen zieht Verf. den Schluß, daß ihre 5 Phoma-Arten deutlich, Aspergillus niger und Penicillium glaucum in sehr geringem Maße zur Bindung von Luftstickstoff befähigt sind. Sie neigt mit Pfeffer der Ansicht zu, daß auf Grund der Erfahrungen über andere Funktionen mit Sicherheit erwartet werden darf, daß die Befähigung zur Assimilation des freien Stickstoffs in einem graduell verschiedenen Maße ausgebildet ist, und daß sich Abstufungen zu denjenigen Organismen finden, in denen eine solche Assimilation nicht mehr zu bemerken ist. Die mitgeteilten Ergebnisse der Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl berechtigen in der Tat zur Behauptung einer Stickstoff-

bindung, die erhaltenen Zahlen werden aber bei Nachprüfungen doch wohl bestimmte Korrekturen erfahren. Die Verf. führte im allgemeinen getrennte Stickstoffbestimmungen in dem aus der Nährlösung (50—100 ccm) abfiltrierten Mycel und im Filtrate aus und berechnete unter Berücksichtigung des in der Ausgangslösung bereits vorhandenen Stickstoffs die Stickstoffzunahme in den Kulturen. Dabei kamen nur aliquote Teile des Filtrates zur Aufschließung, die erhaltenen Werte mußten also je nach der Größe des Analysenanteils mit mehr oder weniger großen Faktoren multipliziert werden. Ein solches Verfahren muß aber bei den in Betracht kommenden sehr geringen Stickstoffzunahmen um so mehr zu bedenklichen Resultaten führen, als in den Filtraten noch Sporen und Mycelteilchen enthalten waren, die allein als die Träger des assimilierten Stickstoffs anzusehen sind und deren absolut gleichmäßige Verteilung in der ganzen Flüssigkeit angenommen werden müßte, wenn die durch Multiplikation gefundenen Werte Anspruch auf Richtigkeit haben sollen. Dazu kommt noch, daß die wirklich ermittelten Stickstoffwerte sehr gering waren und meistens weniger wie 1 ccm der verwendeten $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge entsprachen. Bei den am deutlichsten assimilierenden Arten (Phoma radicis Oxycocci und Phoma radicis Vaccinii) war weitaus die größte Stickstoffmenge in den Lösungen, d. h. in den im Filtrate schwebenden Sporen und Mycelteilchen enthalten, von diesem kamen jedoch nur der 14. bezw. der 16. Teil zur Aufschließung nach Kjeldahl. Da in diesen Anteilen nur 0,9126 mg bezw. 1,1232 mg Stickstoff bestimmt wurden, so sind die für die Stickstoffbereicherung der ganzen Nährlösung aus diesen Zahlen berechneten Werte von 14,6016 mg und 15,7248 mg N nach dem Gesagten nicht ohne weiteres als richtig anzuerkennen. Bei solchen Untersuchungen sollte der Grundsatz gelten, möglichst große Mengen von Kulturflüssigkeit (am besten nicht unter 1000 ccm) zu verwenden und diese am Schlusse des Versuches mit der herangewachsenen Kultur ungeteilt zu analysieren.

Eine Gegenüberstellung der von der Verf. für ihre Pilze ermittelten Werte mit den bei den bekannten Stickstoffsammlern festgestellten Stickstoffgewinnen ergibt das folgende Bild:

Name des assimilierenden Organismus	Dauer des Versuchs	Gebotene Dextrose		Verarbeitete Dextrose	Stickstoffgewinn	Assim. N pro 1 g verarbeitete Dextrose	Bemerkungen
	Tage	g	Proz.	g	mg	mg	
Clostrid. Pastor. (Winogradsky)	20	40	4	40	53,6	1,34	
„ „ „	20	20	2	20	24,4	1,22	
Clostrid. Americ. (Pringsheim)	30	1,25	0,25	1,25	4,6	3,7	
„ „ „	30	5	1	3,01	8,2	3,01	
Azotobact. chroococc. (Gerlach und Vogel)	35	5	0,5	5	42,7	8,56	Mittel aus 2 Best.
Azotobact. chroococc. (Gerlach und Vogel)	35	12	1,2	12	127,9	10,66	
Aspergillus niger (Ternetz)	28	7	7	1,1	1,9	1,71	
Penicillium glaucum (Ternetz)	28	7	7	0,7	2,8	3,80	
Phoma rad. Oxycocci („)	28	7	7	0,85	15,3	18,08	
„ „ Andromedae („)	28	7	7	0,67	7,3	10,92	
„ „ Vaccinii („)	28	7	7	0,71	15,7	22,14	Nicht ganz bakterienfrei
„ „ Tetralicis („)	28	7	7	1,0	4	3,99	
„ „ Ericae („)	28	7	7	1,1	2,3	2,17	

Vogel (Bromberg).

Wilfarth † und **Wimmer**, Ueber den Einfluß der Mineraldüngung auf die Stickstoffbindung durch niedere Organismen im Boden. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXVII. 1907. p. 27.)

Die Verff. suchten durch Vegetationsversuche in Glasgefäßen unter Anwendung von weißem Quarzsand die Wirkung der Mineralstoffe, besonders der Phosphorsäure, auf die Stickstoffsammlung näher zu ergründen. Zur Impfung des mit verschiedenen Düngungen versehenen Sandes wurde Bodenaufguß verwendet in einer Menge, die pro Gefäß etwa 8 g Boden entsprach. Von Interesse waren die Beziehungen der Phosphorsäuredüngung zu den in den Gefäßen auftretenden Algen. In dem phosphorsäurefreien Sande trat kein bemerkenswertes Algenwachstum ein, dagegen entwickelte sich in den mit Phosphatdüngungen versehenen Gefäßen eine reichliche Algenvegetation an der Oberfläche und den Seitenwandungen der Gefäße. Am Schluß der Versuche konnten in dem Kultursande drei verschiedene Schichten festgestellt werden, die für sich entnommen und näher untersucht wurden:

1) Die obere, mit Algen bewachsene, und von außen her möglicherweise auch verunreinigte Schicht.

2) Die an den Gefäßwandungen befindliche, reich mit Algen besetzte äußere Schicht.

3) Der innere algenlose Kern des Sandes.

Diese Teile kamen getrennt zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, und es zeigte sich, daß ohne Phosphorsäure keine bemerkenswerte Stickstoffsammlung eingetreten war. Die phosphorsäurefreien Gefäße wiesen einen Stickstoffgewinn von nur etwa 9 mg auf. Bei Anwesenheit von Phosphorsäure stieg der Stickstoffgewinn ganz erheblich und zeigte sich in gewissem Grade von der Art der vorhandenen Phosphorsäureverbindung abhängig. Die Stickstoffsammlung betrug:

Phosphorsäuredüngung mg pro Gefäß:	In Form von:	Assimilierter Stickstoff pro Gefäß:
35,5	Calciumphosphat	57,152 mg
35,5	Kaliumphosphat	62,921 „
142,0	Calciumphosphat	66,912 „
142,0	Kaliumphosphat	72,114 „

Durch eine gleichzeitige Stickstoffdüngung wurde der Stickstoffgewinn erheblich erniedrigt, er war aber bei Anwesenheit von Phosphaten immerhin recht bemerkenswert.

Die Stickstoffzunahme erfolgte fast ausschließlich in den algenreichen äußeren Schichten, der innere algenfreie Kern enthielt selbst bei Gegenwart von Phosphorsäure nur minimale Mengen von Stickstoff. Ob Algen oder Bakterien oder beide im Verein den Stickstoffgewinn veranlaßt haben, läßt sich aus den Versuchen nicht ersehen.

In der herangewachsenen Algenvegetation wurde außer Stickstoff auch organische Substanz (Glühverlust) ermittelt. Es ergab sich, daß ohne Phosphorsäure eine Bildung organischer Substanz kaum stattgefunden hat, und daß bei Darbietung von Phosphorsäure auf 1 Teil gebundenen Stickstoffs etwa 20 Teile organischer Substanz produziert worden waren.

Die Autoren fassen das Gesamtergebnis in folgende Sätze zusammen:

Bei Gegenwart genügender Mengen von Kali, Kalk und Magnesia wurde in reinem Sande durch niedere Organismen, welche durch Bodenaufguß hinzugefügt waren, kein freier Stickstoff gebunden, wenn die

Phosphorsäure fehlte. Bei Zugabe von Phosphorsäure fand eine erhebliche Stickstoffbindung statt.

Die Bildung organischer Substanz in Form verschiedenartiger Algen verlief genau so, wie die Stickstoffbindung, so daß also ohne Phosphorsäure keine organische Substanz, bei Phosphorsäurezugabe jedoch erhebliche Mengen davon gebildet wurden.

Auf 1 Teil gebundenen Stickstoffs wurden durchschnittlich 20 Teile organische Substanz hervorgebracht. Vogel (Bromberg).

Fuhrmann, Franz, Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen im Lichte neuerer Forschung. (Mitteil. des naturwiss. Vereins für Steiermark. Jahrg. 1907. Graz 1908. p. 34—56.)

Der über dieses Thema im obigen Vereine März 1907 gehaltene Vortrag beschäftigt sich mit folgenden Punkten: Geschichtlicher Rückblick. Verdienste Hellriegels. Brunhorst-Tschirchsche Theorie. Ansichten von Beijerinck und Prazmowski über die Infektion der jungen Pflanze. Die Artenfrage und Hervorhebung der Verdienste von Hiltner und Störmer in dieser Frage. Nach diesen Forschern kann die Leguminose erst dann elementaren Stickstoff gewinnen, wenn die Bakterioiden in den Knöllchen die mit Jodtinktur sich braunrot färbenden Körper ausbilden. Dies geschieht besonders dann, wenn die Kohlenhydratnahrung überwiegt und die sonst zugänglichen Stickstoffquellen fast völlig aufgebraucht sind. Zurückweisung der Deutung der Bakterioiden als Involutionsformen, Hat man es mit einer Symbiose oder mit Parasitismus zu tun? Ansicht von Jamieson, die Knöllchen werden als pathologische Gebilde von einem echten Pilze hervorgebracht, der aber durchaus nicht für die Stickstoffbindung irgendwie in Betracht kommt. Matouschek (Wien).

Karpinski und **Niklewski,** Ueber den Einfluß organischer Verbindungen auf den Verlauf der Nitrifikation in unreinen Kulturen. (Bull. de l'acad. des sc. de Cracovie, classe des sc. mathém. et nat. 1907. p. 596—615.)

Im Anschluß an die Arbeiten von Wimmer, van Iterson, Löhnis, Gutzeit, Müntz und Lainé und in Uebereinstimmung mit diesen wird konstatiert, daß, entgegen der allzusehr generalisierten These Winogradskys zum mindesten in Rohkulturen die Nitritbildung durch die in Erdextrakten vorhandenen organischen Substanzen sowie durch Humate (aus Torf) entschieden gefördert wird; dasselbe gilt in geringerem Grade für kleine Mengen Natriumacetat und Calciumacetat. Auch sehr geringe Pepton- und Zuckerzugaben (ca. 0,001 Proz.) übten zunächst einen günstigen, bei wiederholter Uebertragung dagegen einen deutlich nachteiligen Einfluß aus. — Die Nitritbestimmungen sind nur auf kolorimetrischem Wege ausgeführt, dabei hat das statt Kreide hier wieder verwendete basische Magnesiumkarbonat oft zu beträchtlichen Ammoniakverlusten geführt. Die mitunter recht erheblichen Differenzen der Parallelversuche dürften jedenfalls zum Teil auf diesen Umstand zurückzuführen sein, außerdem sind sie aber sicherlich mit dadurch bedingt, daß beim Ueberimpfen nur einige Platinösen Material aus der zunächst mit Erde beschickten Lösung übertragen wurden. Auch bei der Verwendung von Erde wirkten nur relativ große Impfmengen sicher. Immerhin ist die fördernde Wirkung, die gewisse organische Substanzen auf den Verlauf der Nitrifikation in Rohkulturen aus-

üben, unverkennbar. Die Frage soll unter Benutzung von Reinkulturen weiter verfolgt werden. Löhnis (Leipzig).

Lauterborn, Robert, Eine neue Gattung der Schwefelbakterien (Thioploca Schmidlei nov. gen., nov. spec.). (Berichte der deutschen bot. Gesellsch. Jahrg. XXV. p. 238—242. Mit 1 Textabb.)

Im „Untersee" des Bodensees in der Gegend von Ermatingen in 15—20 m Tiefe durchzieht das Innere des kalkreichen Grundschlicks eine neue Schwefelbakterie (im Titel genannt). Thioploca n. genus steht im System am nächsten der Beggiatoa. Die Diagnose ist: Fäden von Beggiatoa-artigem Habitus, mit reichlichen Schwefelkörnern, beweglich, in oft beträchtlicher Zahl parallel nebeneinander verlaufend, zu seilartigen Bündeln vereinigt und verflochten. Nach außen umschlossen von weit abstehenden farblosen Gallertröhren, meist mit Schlammpartikeln inkrustiert und bisweilen mit ringförmigen Einschnürungen versehen. Zellen der Fäden 5—9 μ dick, 1—$1^1/_2$mal so lang als breit, Gallertschläuche 50—160 μ dick, bis mehrere Centimeter lang.

Thioploca steht zu Beggiatoa in einem ganz ähnlichen Verhältnisse, wie unter den Cyanophyceen die bündelweise in Gallertröhren eingeschlossenen Gattungen Hydrocoleum oder Microcoleus zur freibeweglichen Oscillatoria. Das Plasma der neuen Art ist von schwach bläulicher Farbe, scheinbar homogen. Wegen der vielen Schwefelkörnchen erscheinen die Thioploca-Fäden im durchfallenden Lichte ganz schwarz. Die dickeren Schläuche weisen ringförmige Einschnürungen auf, welche den Schläuchen ein eigenartiges, fast wurmförmiges Aussehen verleihen. Als Quelle für die Entbindung von H_2S dürfte für unsere Art die Fäulnis abgestorbener Reste der Tier- und Pflanzenwelt des Grundes als auch derjenigen des freien Wassers in Frage kommen. In Gesellschaft lebt Spirobacillus sp., deren Typus S. gigas Certes aus getrocknetem Schlamm von Arabien und Ostafrika beschrieb. Eine zweite kleinere und dünnere Art derselben Gattung (Spirob. Bütschlii n. sp.) fand Verf. wiederholt im Schlamme einiger Weiher des Pfälzerwaldes bei Kaiserlautern. Beide Formen hält Verf. für die gleiche Art. Matouschek (Wien).

Rauk, Anton, 1) Beiträge zur Kenntnis der sulfatreduzierenden Bakterien. 8°. 66 pp. Zürich 1907.

2) Schwefelwasserstoffbildung im Passuger Mineralwasser.

Es geht kaum, ganz allgemein von H_2S-bildenden Bakterien als einer besonderen Gruppe zu sprechen ohne die Versuchsbedingungen, speziell das Nährmaterial anzugeben. Verf. verfolgt speziell den Zweck, die noch wenig untersuchte Frage über die Ubiquität der von Beijerinck isolierten Spirillen — Spirillum desulfuricans — zu studieren und gleichzeitig nach anderen sulfatreduzierenden Bakterienarten zu suchen.

Verf. konnte aus dem Züricher Kanalwasser einen Mikroorganismus züchten, dessen mikroskopisches Aussehen ganz variabel war. In ganz jungen flüssigen Kulturen, in denen noch keine Reduktion zu H_2S stattgefunden hatte, zeigten sich vorwiegend kurze, dünne Vibrionen. In etwas älteren Kulturen mit beginnender H_2S-Bildung trifft man meist Spirillen von 2—3 Windungen; in 3—4 Wochen alten und stark nach H_2S riechenden sind es schön entwickelte, ziemlich flachschraubige Spirillen von 2—10 Windungen. Auch bei der stärksten Vergrößerung von 1200 ist eine Segmentierung an den Spirillen nicht nachzuweisen.

Vibrionen und kurze Spirillen zeigen lebhafte Bewegung; bei langen Spirillen dagegen sieht man schlängelnde Bewegung. Geißelfärbung sowohl nach Löffler wie nach Zettnow zeigen durchweg nur eine polare, stark geschlängelte Geißel.

Färben gelingt besonders gut mit Anilinwasserfuchsin und Karbolfuchsin, aber auch mit den gewöhnlichen Farblösungen; nach Gram nur bei sehr kurzdauernder Einwirkung des Alkohols.

Das Spirillum erweist sich als streng obligat anaërob, das Wachstum bei Zimmertemperatur ist nur sehr langsam; das Optimum wird bei etwa 29° erreicht, doch reicht das Wachstum bis zu 37°.

Auf gewöhnlichen Nährböden findet im Verhältnis zu anderen Bakterien ein nur schwaches und unsicheres Wachstum statt und in Mischkultur mit Coli-Art besser als in Reinkultur. Ein Zusatz von ameisensaurem oder indigschwefelsaurem Natron zur Nährgelatine ist ohne merklichen Einfluß. Reinkultur in van Seldenschem Nährboden ergab ebenfalls nur ein unsicheres Wachstum; war es vorhanden, so zeigte sich in der Flüssigkcit nach etwa 10 Tagen H_2S-Bildung, erkennbar in der entsprechenden Gelatine nach etwa 5 Tagen. In des Verf. Ammoniumsulfatgelatine zeigte sich deutlich besseres Wachstum. Schlammgelatine bietet keine Vorteile.

Die Form der Kolonie ist nur in eisenfreien Nährböden sichtbar, es zeigen sich gelblich-weiße Kolonieen von unregelmäßiger Gestalt, daneben wuchsen auch mehr kugelige Formen von Stecknadelkopfgröße auf. — In eisenhaltiger Gelatine gewahrt man anfänglich nur punktförmige schwarze Kolonieen, die sich nach und nach zu kleinen Kugeln ausbilden. Wird die Entwürzung durch Säurezusatz zum Verschwinden gebracht, so bleibt zerstreut eine kleine Kolonie zurück.

Sporenbildung wurde niemals beobachtet.

Austrocknung hält das Spirillum nicht aus, Säuren gegenüber ist es empfindlich und gedeiht nur auf neutralem oder schwach alkalischem Medium. Lebensdauer der Rohkultur des Spirillums in van Deldenscher Nährflüssigkeit betrug über 6 Monate; die Lebensdauer der Reinkultur darin erstreckte sich über 6—8 Wochen.

Verf. konnte das Spirill im Boden, in Schmelzwasser, Fluß- und Seeschlamm wie Meersand auffinden, stets entwickelte es sich mit anderen Bakterien, speziell Coli-Art, sichtlich besser als allein in Reinkultur. Rauk ist der Meinung, daß sein Spirill mit Spirillum desulfuricans identisch zu erklären sei.

2) Da einzelne Flaschen mit sulfathaltigem Mineralwasser einen Geruch nach H_2S zeigen, untersuchte er die Schwefelwasserstoffbildung im Passuger Mineralwasser.

Alle untersuchten Proben von normalem Passuger Ulricuswasser zeigten nach dem Oeffnen und Ueberimpfen auf geeignete Nährböden Wachstum von Bakterien.

Das vom Verf. aus Schlamm und Schmutzwasser isolierte Spirillum desulfuricans vermag, unter gewissen Bedingungen in Passuger Ulricuswasser geimpft, die Sulfate desselben zu reduzieren, so daß anfänglich normales Wasser nach einiger Zeit starken Geruch nach H_2S aufweist.

Aus dem zur Reinigung der Flaschen in Passug verwandten Sand gelang es Rauk, einen mit Spirillum desulfurans identischen Mikroorganismus zu isolieren, der, in normales Ulricuswasser geimpft, unter gewissen Bedingunken die Sulfate desselben zu H_2S reduzierte.

Solche sulfatreduzierende Mikroorganismen konnte Rauk durch ge-

eignete Mittel auch aus nicht zu alten Flaschen normalen Passuger Ulricuswassers herauszüchten, der identisch mit Spirillum desulfuricans ist.

Zur Auslösung der H_2S-Bildung genügt nicht allein die Anwesenheit der betreffenden Organismen in den Flaschen, sondern es bedarf hierzu noch gewisser begünstigender Faktoren.

Stroh vermag unter Umständen einen auf die Entwickelung der vorhandenen Sulfatzerleger begünstigenden Einfluß auszuüben.

E. Roth (Halle a. S.).

Bruck, W. F., Pflanzenkrankheiten. 154 p. 1 Tafel und 45 Textabb. Leipzig (Göschen) 1907.

In drei Abschnitte wird das Thema gegliedert: Entwickelung der Phytopathologie und ihre Arbeitsmethoden, die wichtigsten Krankheiten bei Getreide, Kartoffeln, Rüben, Leguminosen, Wald- und Obstbäumen, wozu sich noch ein Ueberblick über den Bau und die Systematik der pflanzlichen und tierischen Schädlinge gesellt und schließlich ein Kapitel über die hauptsächlichsten Bekämpfungsmittel mit einem Hinweise auf die Wichtigkeit einer Pflanzenhygiene. Matouschek (Wien).

Faber, v., Bericht über die pflanzenpathologische Expedition nach Kamerun. (Der Tropenpflanzer. 1907. Heft 11. p. 755.)

Die Expedition hatte den Zweck, die Krankheiten der Kakao- und Kautschukpflanzen zu studieren. Gegen die Braunfäule des Kakaos hat Busse Kupferkalkbrühe empfohlen. Verf. setzt 250 g Kolophonium und 500 g Kartoffelstärke einem Hektoliter 2-proz. Brühe zu. Dies Gemisch haftet fest, die Wirkung des Kupfers ist nicht beeinträchtigt. Die Fruchtschalen sollen mit Eisenvitriol desinfiziert oder vermeilert werden, um die Oosporen zu vernichten. Die zahlreiche Epiphytenvegetation an den Stämmen ermöglicht dem Pilz leicht eine Ansiedelung und Uebergreifen auf die Früchte. Sie soll mit Bürsten entfernt oder mit Kupferbrühe getötet werden. Als beste Konzentration hat sich 2-proz. Brühe erwiesen, der Ausfall sinkt von 56 Proz. auf 22 Proz.

Der schon lange bekannte Kakaohexenbesen wird verursacht durch Exoascus Bussei n. sp. Die befallenen Zweige bringen keine Blüten. Als Bekämpfungsmittel empfiehlt sich Zurückschneiden und Verbrennen der erkrankten Zweige.

Der in Ceylon sehr verheerend auftretende Kakaokrebs ist auch in Kamerun vom Verf. beobachtet worden. Der Erreger ist ein Pilz aus der Gattung Nectria. An Stamm und Aesten befallener Bäume zeigen sich große dunkelbraune Flecken. Der Pilz befällt auch Früchte. Zur Bekämpfung empfiehlt sich Ausschneiden der erkrankten Rindenpartieen.

Der Wurzelpilz (wahrscheinlich verwandt mit Armillaria mellea) fügt manchen Kakaopflanzungen Schaden zu. Ausroden der befallenen Bäume notwendig.

An tierischen Parasiten treten am Kakao auf Rindenwanzen, die wahrscheinlich vom Urwald kommen, die Larve einer Lymantriide (Acraea), die junge Früchte ansticht. Es wurden noch eine Reihe anderer Insekten beobachtet, die weiter nicht schaden.

An Kickxia elastica Preuss fand Verf. eine Krankheit, die er als Spitzendürre bezeichnet. Die jungen Triebspitzen vertrocknen und werden schwarz, die Blätter kräuseln sich. Der Vegetationspunkt ist nicht zerstört, wahrscheinlich handelt es sich um Wanzen als Erreger.

Großer Schaden wird durch die Bockkäfer Phrystola hecphora Thoms und Monohammus ruspator F. verursacht. Eine Raupe (wahrscheinlich zu Terphotrix gehörig) und eine Spinne (Clubriona) machen den Blättern Schaden. Gefährlich scheint auch der Castilloabohrer (Inesida leprosa), den Busse an den Castilloabäumen beobachtet hat, der Kickxia zu werden.

Die Kickxia-Keime werden von einem Pilz befallen, die ersten Blätter werden gelb und die Pflanzen fallen um. In den abnorm knollig, wurstartig verdickten Wurzeln hat Verf. Pilzgallen gefunden.

Am Kolabaum (Cola vera) tritt eine Käferlarve auf, die junge Stämme befällt und vollkommen aushöhlt.

Zum Schluß gibt Verf. noch allgemeine Betrachtungen über die Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten in Kamerun.

Eichinger (Halle a. S.).

Fallada, Ottokar, Ueber die Weißblätterigkeit (Albicatio) der Zuckerrübe. (Oesterr.-Ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. Jahrg. XXXVI. 1907. p. 621.)

Beobachtungen haben dargetan, daß, wie bei anderen Pflanzen auch bei der Weißblätterigkeit der Zuckerrübe die weißen Flecken schon in dem jungen Blatte angedeutet sind, daß jedoch nach den bisherigen Erfahrungen die Erkrankung nicht schon am Anfang der Vegetationsperiode auftritt, sondern erst gegen Ende des Sommers. Briem hat vor 19 Jahren vergleichende chemische Untersuchungen über erkrankte und noch grün gebliebene Blätter veröffentlicht, die sich aber nur auf die Ermittelung des Wassergehaltes, der Asche und der Menge der organischen Substanz erstreckten. Da dem Verf. genügendes Material zur Verfügung stand, wurden die Untersuchungen Briems weiter fortgesetzt, wobei auch auf die Zusammensetzung der Asche und auf die Menge der stickstoffhaltigen Stoffe Rücksicht genommen wurde. Auf Grund der Untersuchungen müssen als charakteristische Symptome der Erkrankung betrachtet werden: die Erhöhung des Wassergehaltes, die Verminderung der organischen Substanz bei gleichzeitiger relativer Vermehrung des Eiweißes und insbesondere der nicht eiweißartigen Stickstoffsubstanzen, ferner eine Erhöhung des Kali- und Phosphorsäuregehaltes bei gleichzeitiger Abnahme von Kalk und Kieselsäure. Demnach wäre die Ansicht Sorauers bezüglich der Entstehung der Albicatio zu berichtigen, welcher Forscher sich als Entstehungsursache das zu frühe Abschneiden der Stickstoffzufuhr denkt. Es scheint vielmehr die eingetretene Kalkarmut in Verbindung mit der Verminderung der Kieselsäure eine normale Ausbildung des Zellhautgerüstes zu hemmen, wobei natürlich die assimilatorische Funktion des Blattes durch eine solche intensive Wachstumsstörung sehr zu leiden hat. Mit Recht hebt aber Sorauer hervor, daß die gleichzeitige Mitwirkung bestimmter Temperatur- und Beleuchtungsverhältnisse jedenfalls zu den veranlassenden Ursachen dieses Schwächezustandes gehören. Weiter bestätigt Verf., daß die Weißblätterigkeit als eine gutartige Rübenkrankheit anzusehen ist, da durch die krankhafte Veränderung der Blätter keine wesentliche Verringerung des Wurzelgewichtes, sowie auch keine Qualitätsverminderung der Wurzel herbeigeführt wird.

Stift (Wien).

Haselhoff, E., Versuche über die Einwirkung von Flugstaub auf Boden und Pflanzen. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1907. p. 157.)

Es standen zur Verfügung: Flugstaub I—VII aus Steinkohlenfeuerung und VIII—XVI aus Braunkohlenfeuerung. In der ersten Versuchsreihe wurden die Flugstaubproben dem Boden beigemischt, teilweise in sehr großer Menge. Es ergab sich bei Probe I—V und VII keine schädliche Wirkung auf den Aufgang der Pflanzen und ihre weitere Entwickelung, manchmal entschieden eine Förderung durch die in den Proben vorhandenen Nährsalze. Die meisten Proben von VIII—XVII waren den Pflanzen schädlich, wegen des Gehaltes an Chloriden (Natriumchlorid) und Sulfiden (Natrium- und Calciumsulfid). Je mehr durch ungünstige Bodenverhältnisse die Bildung von Schwefelwasserstoff aus ihnen gefördert wird, desto schädlicher sind sie. In den geernteten Pflanzen zeigte sich oft eine Zunahme der im Flugstaub vorhandenen Bestandteile, namentlich von Natrium, Schwefelsäure und Kieselsäure.

Die direkte Bestäubung der Pflanzen mit Flugasche kann so nachteilig wirken, daß das Wachstum beeinträchtigt wird. Es hängt dies ab von dem Zustand, in welcher sich die Pflanze befindet. Bei feuchtem Wetter wirkt der Flugstaub besonders schädlich, da er besser haftet, und die löslichen ätzenden Bestandteile abgibt. Als besonders schädlich erweisen sich von den im Staub vorhandenen Verbindungen Natriumsulfid, weniger Natriumsulfat, am wenigsten Calciumsulfid. Die chemische Untersuchung der Ernte lehrt, daß diejenigen Bestandteile vermehrt wurden, die in dem zur Bestäubung verwendeten Material in größerer Menge enthalten waren. Die mikroskopische Untersuchung zeigt eine weitgehende Zerstörung der Blattsubstanz, typische anatomische Merkmale sind nicht vorhanden. In erster Linie kann uns also nur die chemische Untersuchung erkrankter Pflanzen Anhaltspunkte für die Art der Schädigung geben. Eichinger (Halle a. S.).

Wilson, G. W., Studies in North American Peronosporales. I. The genus Albugo. (Bull. Torrey bot. Club. Vol. XXXIV. 1907. p. 61—84. Mit Fig.)

Die vorliegende Arbeit bildet den ersten Teil einer Monographie der nordamerikanischen Peronosporeen. Folgende Arten werden unterschieden:

*Albugo candida (Pers.) Ktze. auf vielen Cruciferen;
A. sibirica (Zal.) Wils. auf einer Asperifoliacee in Sibirien;
A. tropica (Lagh.) Wils. auf Peperomia pellucida in Ekuador;
*A. Ipomaeae-panduranae (Schw.) Sw. auf Convolvulaceen (synonym Cystopus Convolvulacearum Speg.);
*A. Lepigoni (De Bary) Ktze. auf Tissa-Arten in Europa, Afrika, Nord- und Südamerika;
A. Swertiae (Berl. et Kom.) Wils. auf Swertia connata in Sibirien (synonym Cystopus Convolvulacearum Speg. var. Swertiae);
*A. Tragopogonis (DC.) S. F. Gray (syn. Cyst. brasilensis Speg., C. Mikaniae Speg., C. spinulosus De Bary) auf vielen Kompositen;
A. quadrata (Kalchbr. et Cke.) Ktze. auf Herpestis verticillaris in Südafrika;
A. Tillaeae (Lag.) Wils. auf Tillaea rubescens in Ekuador;
*A. Bliti (Biv.) Ktze. (syn. Cystopus Cyathulae Wint.) auf Amaranthus-, Cladothrix- und Cyathula-Arten;
*A. platensis (Speg.) Sw. auf Wedelia und Boerhaavia-Arten in Asien, Afrika, Central- und Südamerika;
*A. occidentalis nov. spec. auf Blitum capitatum und Chenopodium rubrum in Nordamerika;
*A. Portulacae (DC.) Ktze. auf Portulaca oleracea, gemein.

Die mit einem Sternchen versehenen Arten sind einheimische. Folgende Arten werden gestrichen: Cystopus Euphorbiae Cke. et

Mass., C. Salsolae Syd. und C. Schlechteri Syd. Verf. hält sie für keine Pilzbildungen, trotzdem sie einem Cystopus sehr ähneln.

Die Arten werden genau beschrieben, die Fundorte und Nährpflanzen notiert. Die Bestimmungstabelle ist recht brauchbar.

Matouschek (Wien).

Bubák, Franz, Ueber Puccinia Carlinae E. Jacky in bisheriger Begrenzung. (Berichte der deutschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 56—58.)

Beschreibung einer neuen Art, Puccinia divergens Bubák. Sie wurde bisher auf Carlina vulgaris in Ungarn und auf Carlina longifolia in Bulgarien gefunden, hat aber wahrscheinlich eine ziemlich große Verbreitung, da sie allein auf den angegebenen Carlina-Arten vorzukommen scheint. Sie ist vielleicht eine Brachyform. Die Unterschiede der neuen Art gegenüber Puccinia Carlinae sind folgende:

P. Carolinae.	P. divergens.
Teleutosporen meist birnen- oder eiförmig 25—40 μ × 16—24 μ.	Größtenteils ellipsoidisch, 40—51 μ × 24—33 μ.
Warzen des Epispors klein.	Warzen höher.
Keimsporen in der Scheitelzelle um 1/3, in der Basalzelle um 1/4 herabgedrückt.	Hier aber liegen dieselben in der Scheitelzelle bis zu 1/2, in der Basalzelle zwischen 1/8—1/2.
Uredosporen 24—33 μ × 20—31 μ.	28—40 μ × 22—33 μ, also relativ größer.
Sporenlager nicht so lang bedeckt.	Wie bei dieser Art, was allerdings mit der Beschaffenheit der Epidermis zusammenhängt.

Matouschek (Wien).

Magnus, Paul, Beitrag zur morphologischen Unterscheidung einiger Uromyces-Arten der Papilionaceen. (Berichte der deutschen bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 250—255. Mit 1 Taf.)

1) Ein bisher zu Uromyces striatus Schröt. gezogener Uromyces auf Vicia tenuifolia aus dem Engadin und ein auf Lens esculenta lebender Uromyces gehören zu Uromyces Viciae-Craccae Const.

2) Eine bisher zu Uromyces Pisi (Pers.) gerechnete Uromyces-Form auf Vicia Cracca ist als eigene Art anzusehen und wird Uromyces Fischeri-Eduardi genannt. Recht verwandt mit dieser Species ist ein Uromyces auf Vicia hirsuta, der vielleicht doch eine selbständige Art sein dürfte. Matouschek (Wien).

Kern, Frank Dunn, New western species of Gymnosporangium and Roestelia. (Bulletin of the Torrey botanical Club. Vol. XXXIV. 1907. p. 457—463.)

In den Rocky Mountains fand Verf. viele neue Arten, die genau beschrieben werden. Es sind dies: Gymnosporangium Betheli n. sp. (auf Zweigen von Sabina scopulorum Rydb.), Gymn. durum n. sp. (auf Zweigen von Sabina utahensis Rydb.), G. inconspicuum n. sp. (auf demselben Substrat), Roestelia Betheli n. sp. (auf Früchten von Crataegus Cerronis A. N. und von Crat. saligna Greene), R. Harknessiana Ellis et Ev. (auf Amelanchier alnifolia Nutt.), R. Harknessianoides n. sp. (auf Früchten von Amelanchier oreophila A. N. und von A. alnifolia Nutt.).

Matouschek (Wien).

Korff, Brandkrankheiten an gärtnerischen Kulturpflanzen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. 1907. p. 79.)

Bei den Brandkrankheiten der Gartengewächse sind vornehmlich Arten der Gattung Urocystis als Erreger anzutreffen. Von den an Zierpflanzen vorkommenden Brandarten ist der Veilchenbrand (Urocystis Violae) am meisten verbreitet. Verf. beschreibt die charakteristischen Merkmale dieser Krankheitsform und des erregenden Parasiten. Die Blütenbildung wird durch die Gegenwart des Pilzes nicht verhindert. Die auftretenden Sporenlager führen oft zu einer starken Deformierung der Blatt- und Blütenstiele. Die Bekämpfung muß frühzeitig in Angriff genommen werden und zwar durch Entfernung aller erkrankten Pflanzen, Behandlung des Bodens mit Aetzkalk und Trockenhaltung des Bodens. Eine Behandlung des Saatguts mit $^1/_2$-proz. Formalinlösung ist als vorbeugende Maßnahme zu empfehlen. Auch Ausrottung der wilden Veilchenarten in der Nähe der Kulturen und Wechsel des Standortes haben sich als Mittel zur Bekämpfung des Veilchenbrands bewährt.

Der Zwiebelbrand (Urocystis Cepulae) hat in Nordamerika schon beträchtlichen Schaden angerichtet, ist aber in Europa noch zu keiner größeren Verbreitung gelangt. Da die Sporen wahrscheinlich im Boden verbleiben, hat man zur Bekämpfung Bodenerneuerung, Umpflanzen bezw. Feldwechsel vorgeschlagen. Ferner soll die Behandlung des Bodens mit einem Gemisch von Schwefel und Kalk und die Verpflanzung von im Warmbeet herangezogenen Keimlingen gute Dienste geleistet haben. Vogel (Bromberg).

Hecke, Ludwig, Die Triebinfektion bei Brandpilzen. (Zeitschr. für das landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 572—574.)

Bisher waren 2 Infektionsarten bei den Brandpilzen bekannt, die Keimlingsinfektion, bei der der junge Keimling von den keimenden Brandsporen, die am Samen haften, angesteckt wird, und die Blüteninfektion, bei welcher der junge Fruchtknoten angesteckt wird und der Pilz im reifen Samen überwintert. Bei Ustilago violacea auf Melandryum album findet nach Brefeld die Uebertragung durch Insekten statt. Verf. konnte dies nicht beobachten. Dadurch können natürlich die positiven Erfolge Brefelds bei Blüteninfektion nicht entkräftet werden, da der Erfolg der Blüteninfektion von äußeren Umständen sehr abhängig ist. Keimlingsinfektion gelang leicht und sicher. Abgesehen von den noch unsicheren Resultaten Brefelds mit Ustilago Avenae liegt also bei Ustilago violacea der erste Fall vor, daß bei derselben Brandart Keimlings- und Blüteninfektion vorkommt. Für die Verbreitung des Pilzes existiert noch eine dritte Möglichkeit, die Verf. neu auffand und als Triebinfektion bezeichnet. Sie besteht in folgendem: Schneidet man im Oktober bis auf den Wurzelhals zweijährige Pflanzen zurück und bestäubt den entblößten Wurzelhals mit Sporen und deckt sie mit brandhaltiger Komposterde zu, so sind im Mai des nächsten Jahres die Blüten auf den frisch gebildeten Trieben brandig. Bei Urocystis occulta, welche auf Secale cereale kultiviert wurde, verhält es sich nach Verf. genau so. Es erscheint wahrscheinlich, daß auch bei Brandarten von perennierenden Pflanzen ähnliches auftritt; möglich wäre sie auch bei den Bestockungstrieben der Getreidearten. Verf. arbeitet an diesen Fragen weiter.

Fassen wir zum Schlusse noch das Hauptresultat zusammen: Es existiert außer der Keimlings- und Blüteninfektion noch eine Triebinfektion bei den Brandpilzen. Matouschek (Wien).

Butler, E. J., Some diseases of cereals caused by Sclerospora graminicola. (Memoirs of the Department of Agriculture in India. Botan. Series. Vol. II. No. 1. 1907. 24 pp. Mit 5 Taf.)

Beschreibung einer in Indien häufigen Krankheit in den Aehren von Pennisetum typhoideum. Der Erreger ist Sclerospora graminicola. Der Pilz tritt sonst auf Setaria-Arten auf, so z. B. auf Set. italica. Auch eine auf Andropogon Sorghum vorkommende Form dürfte diesem Pilze angehören.

Matouschek (Wien).

Bernard, Ch., Eene ziekte van den Cocospalm, veroorzaakt door Pestalozzia Palmarum. (Teysmannia. 1906. No. 5.)

—, A propos d'une maladie des Cocotiers, causée par Pestalozzia Palmarum Cooke. (Bulletin Dép. Agric. aux Indes Néerland. II. 1906.)

Der Pilz konnte reinkultiviert werden; die Sporen dienten zu Infektionszwecken. Zwei Monate nach der Infektion zeigten sich weiße Flecken auf den Blättern, verursacht durch das Mycelium. Das Gewebe stirbt später ab und es bilden sich die Fortpflanzungsorgane als schwarze Konidienhäufchen in Masse. Dieselben keimen leicht, daher die schnelle Verbreitung der Krankheit. Doch werden kräftigere ältere Bäume selten hart vom Parasiten mitgenommen. Sublimat und Formol in noch stark verdünnten Lösungen wirkten tödlich. Sonderbarerweise tritt mit dem Pilze immer Helminthosporum incurvatum Bernard auf. Die Abbildungen befassen sich mit den beiden Pilzarten.

Matouschek (Wien).

Mangin, L. et **Hariot, P.,** Sur la maladie du rouge chez l'Abies pectinata. (Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris. T. CXLIII. 1906. p. 840—842.)

Die Verff. haben eine Blätterkrankheit der Abies pectinata untersucht, die sie im Jura angetroffen haben; dieselbe ruft einen rotorangenfarbenen Ton auf den befallenen Zweigen hervor. Die erkrankten Gewebe boten folgende Erscheinungen:

A. Rhizosphaera Abietis n. g. n. sp. ist am häufigsten und bildet kleine schwarze klumpige Massen von $^1/_{10}$ mm im Durchmesser, die in großer Menge an der Unterfläche der Blätter zu beiden Seiten der Mittelrippe stets über den Oeffnungen der Stomata sitzen.

B. Macrophoma Abietis n. sp. tritt in Erscheinung in Gestalt von Pykniden mit spindelförmigen Sporen, die von den der Macrophoma excelsa verschieden sind, ihnen jedoch ähneln.

C. Cystophora Pinastri Fries.

D. Menoidea Abietis n. g. n. sp. ist seltener als die genannten Formen und tritt als kleine subepidermoidale Hervorwölbungen von blaßgelber oder weißer Farbe auf (Konidien halbmondförmig).

Die Verschiedenheit und die Zahl der beschriebenen Pilze gestattet nicht, die Natur der Rötekrankheit bei Abies pectinata zu bestimmen.

Houard (Paris.)

Fraser, H. C. J., On the sexuality and development of the ascocarp in Lachnea stercorea. (Ann. of Botany. Vol. XXI. 1907. p. 349—361. Mit 2 Taf.)

Die Untersuchung liefert einen wertvollen Beitrag zur Kenntnis der sexuell reduzierten Ascomyceten. Die Resultate können folgendermaßen zusammengefaßt werden: Das Archikarp von Lachnea stercorea be-

steht aus zahlreichen Zellen und endigt in ein großes, mehrzelliges Ascogon. An der Spitze des letzteren erhebt sich ein zuerst einzelliges, eventuell aber auch 4—6-zelliges Trichogyn. Die Endzelle des Trichogyns ist größer als die übrigen und verschmilzt mit dem Antheridium. Dieses, ein einzelliges Gebilde, ist nicht immer voll entwickelt. Die Entstehung des Antheridiums konnte nicht mit Sicherheit verfolgt werden. Die männlichen Kerne erreichen nicht das Ascogon, wohl aber findet reduzierte Befruchtung statt, indem die weiblichen Kerne paarweise verschmelzen. Die askogenen Hyphen, in welche die kopulierten Kerne übergehen, wachsen vom Askogon aus und bilden an ihrer Spitze in der bekannten Weise Asci.

Auf Grund dieser Tatsachen ergibt sich, daß Lachnea stercorea in systematischer Hinsicht eine Mittelstellung einnimmt einerseits zwischen Pyronema confluens und Humaria granulata (hinsichtlich der Befruchtungsverhältnisse), andererseits zwischen Pyronema und gewisser Pyrenomyceten (hinsichtlich der Organisation des Trichogyns).

Neger (Tharandt).

Schorstein, Pilzhyphenbilder. (Zeitschr. für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1907. Heft 1.)

Verf. gibt seiner Ansicht über die Bedeutung eines eingehenden Studiums der Gestalt der Hyphen holzbewohnender Pilze, wie der mikrochemischen Färbbarkeit derselben Ausdruck, und bringt eine Anzahl Abbildungen von Hyphen, unter anderen von Lenzites, Polyporus, Xylaria, Merulius u. a. Ehrenberg (Breslau).

Kratz, K., Ueber die Beziehungen der Mycelien einiger saprophytischer Pyrenomyceten zu ihrem Substrate. (Hedwigia. Bd. XLVI. 1906. p. 1—24. Mit 8 Figuren.)

Die Resultate stimmen mit denen, die Duysen in der eben geschilderten Arbeit entwirft, auffällig überein, so daß sie als feststehend betrachtet werden können. Einige Mitteilungen müssen hier besonders angeführt werden:

1) Der geschlossene mechanische Bastring in der Rinde der Kräuterstengel ist für das Mycel nicht durchdringbar, der unterbrochene mechanische Ring nur an den Stellen der Unterbrechung.

2) Die Art der Angriffsweise des Mycels auf den Holzkörper bedingt die Größe des Ausdehnungsbezirkes im Holzkörper und bedingt, daß der Fruchtkörper dem Substrat aufsitzt oder in demselben eingesenkt ist. Im Mesophyll der Blätter ist der Verlauf des Mycels intercellular.

3) Oeltropfen im Mycel sind scheinbar mit abhängig von der chemischen Beschaffenheit des Substrates. Dasselbe Mycel enthält auf einem Umbelliferenstengel, welcher zahlreiche Oelgänge besitzt, Oeltropfen, auf anderem Substrate keine.

4) Anatomisch ähnlicher Aufbau der Wirtspflanzen bedingt ähnliche Ausbreitungsgebiete für die Mycelien selbst verschiedener Pilze; anatomisch verschieden aufgebaute Substrate bedingen verschiedenartige Mycelausbreitungsbezirke derselben oder einer verwandten Species derselben Pilzfamilie.

5) Die Größe des reifen Fruchtkörpers variiert nach dem Charakter der Gewebselemente, die vom Mycel benutzt werden können, d. h. nach der Ernährungsmöglichkeit des Mycels.

6) Hat sich der Fruchtkörper innerhalb eines geschlossenen mechanischen Bastringes entwickelt, so muß die Infektion schon stattgefunden

haben oder muß das Mycel schon in das Substrat eingedrungen sein, ehe der Bastring gebildet war. Hat sich der Fruchtkörper aber über einem geschlossenen Bastringe entwickelt, so dringt das Mycel, selbst wenn der Ring durch mechanische Gewalt Lücken hat, nur bis zu dem Holzkörper vor und breitet sich nur über demselben, nie in demselben aus.

7) Bei unterbrochenem mechanischem Ringe kann das Mycel nur zwischen den einzelnen Bastbelegen eindringen.

8) Die Fruchtkörperform wird durch diese unnachgiebigen Bastbündel beeinflußt.

9) Die natürliche Verwandtschaft der Pilze ist in dem Verbreitungsbezirke des Mycels nicht ausgesprochen, wohl aber stimmt meist die Angriffsweise des Mycels von verwandten Pilzen überein.

10) Das Aussehen und die Verbreitung des Mycels gibt keine sicheren Anhaltspunkte zur Erschließung des Stammpilzes, wohl aber vielfach durch den anatomischen Aufbau zu derjenigen der Nährpflanze.

Matouschek (Wien).

Duysen, Fr., Ueber die Beziehungen der Mycelien einiger, hauptsächlich holzbewohnender Discomyceten zu ihrem Substrate. (Hedwigia. Bd. XLVI. 1906. p. 25—56. Mit 7 Figuren.)

Uns interessieren die gewonnenen Resultate:

Das Mycel kann alle Gewebselemente (ausgenommen Bastfasern, Steinzellen, Korkzellen) für seine Zwecke nutzbar machen, wobei der Angriff folgendermaßen vor sich gehen kann: 1) durch das Durchwuchern von Zelle zu Zelle, ohne daß der Zusammenhalt der Gewebe zerstört wird, 2) durch chemische, enzymatische Lysis, infolgedessen einzelne Gewebe ganz zerstört, ja sogar aufgezehrt werden können, 3) durch chemische Lysis mit mechanischer Durchwucherung. — Das Mycel kann nur dann direkt in das Holz eindringen, wenn es vorher zersetzt ist; die gewöhnliche Eingangspforte für das Mycel ist der Markstrahl. Am stärksten wuchert es in den Markstrahlen und in den Gefäßen; es verbreitet sich in seitlichen Vegetationszonen, sobald es auf schwerer zu überwindende Gewebe stößt. Solche Vegetationszonen bilden sich an den Grenzen des Jahreswachstums, an dem mechanischen Ring in der Rinde und in der Grenze zwischen Rinde und Holz. Das Mycel erfährt die geringste Ausdehnung bei der chemischen Angriffsweise, die größte bei der mechanischen. Die Hyphen verlaufen im Holzkörper intracellular, der in der Rinde intercellular. Hyphen wandern von Zelle zu Zelle immer durch die Tüpfel, wobei sie vor und nach dem Durchgange durch die Tüpfel häufig anschwellen. Dasselbe Substrat wird selbst von dem Mycel verschiedener Pilze in derselben Weise angegriffen; verschiedene Substrate werden von dem Mycel verwandter Pilze in ähnlicher Form angegriffen. Die Ausdehnungsbezirke der Mycelien sind sicher nur durch feste physikalische Gesetze bedingt. Matouschek (Wien).

Ruhland, Eine cytologische Methode zur Erkennung von Hausschwammmycelien. (Arb. aus der k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. V. Heft 7.)

Für Sachverständige ist es von Wichtigkeit, deutliche Unterscheidungsmerkmale zwischen dem echten Hausschwamm (Merulius lacrimans) und anderen holzzerstörenden Pilzen zu kennen. Es kommt in erster Linie neben dem Merulius noch Poria (Polyporus) vaporia in Betracht, denn dieser Pilz ruft im Holz ähnliche Zersetzungen hervor,

wie der echte Hausschwamm. Eine Unterscheidung beider Pilze ist nicht leicht, da man die Fruchtkörper nur selten antrifft. Gelingt es, derbe Mycelstränge zu finden, die die von Hartig nachgewiesene Differenzierung in weite und enge dickwandige Hyphen zeigen, so hat man es mit Merulius zu tun, denn Poria hat dieses Merkmal nicht. Oft muß aber eine Entscheidung nach spärlichen eingesandten Proben getroffen werden; das für diesen Fall von Hartig-v. Tubeuf angegebene Merkmal, daß Merulius aussprossende Schnallen bildet, scheint dem Verf. nicht zuverlässig zu sein, wenn er auch diese Unterscheidungsmethode nicht ganz verwirft, wie Hennings es tut.

Verf. ist es gelungen, eine Methode zu finden, die es gestattet, Merulius und Poria mit Sicherheit zu unterscheiden, auch wenn nur kleine Stücke lebenden Mycels zugänglich sind. Wärend nämlich Poria wie die anderen Basidiomyceten zweikernige Zellen besitzt, sind die Zellen von Merulius vielkernig.

Zum Nachweis der Kerne bedient sich Verf. des Eisenhämatoxylinverfahrens. Die auf diesem Wege hergestellten Präparate sind am Licht allerdings nicht unbegrenzt haltbar.

Außer dem echten Hausschwamm hat auch Merulius aureus vielkernige Zellen, doch unterscheidet sich dieser Pilz vom Hausschwamm dadurch, daß er an einer Querwand nicht eine, sondern mehrere Schnallen entwickelt. Riehm (Steglitz).

Neger, F. W., und Dawson, W., Ueber Clithris quercina (Pers.) Rehm. (Ann. Mycologici. Vol. V. 1907. p. 214—220.)

Der genannte Pilz wird in den meisten Fällen als auf abgestorbenen Eichenzweigen vorkommend angegeben und demnach als harmloser Parasit betrachtet. Vereinzelt wird jedoch mitgeteilt, daß er das Dürrwerden und Absterben junger Eichenäste verursacht. Um die Frage sicher zu entscheiden, inwieweit der Pilz als Schädiger zu betrachten ist, stellten die Verff. Beobachtungen im Freien an, bildeten Reinkulturen des Pilzes und unternahmen Infektionsversuche an Topfpflanzen und in der freien Natur. Aus ihren Beobachtungen und Versuchen schließen die Verff., daß der Pilz kein echter Parasit, sondern nur ein Wundparasit sei, welcher zwar von abgestorbenem Gewebe in das gesunde vorzudringen vermag, aber meist nur an Zweigen, die infolge ungünstiger Lichtlage oder anderer schädlicher Einflüsse (Raupenfraß) in ihrer Lebensenergie beeinträchtigt sind und ohnehin bald absterben würden. In diesen Fällen beschleunigt der Pilz den Tod des betreffenden Astes sehr bedeutend. Der wirtschaftliche Schaden, welchen Clithris quercina verursacht, ist demnach meist von geringer Tragweite.

H. Sydow (Schöneberg).

Köck, G., Ueber die Widerstandsfähigkeit verschiedener Birnsorten gegen die Blattbräune (Stigmatea Mespili) und verschiedener Paradiessorten gegenüber Septoria lycopersici. (Zeitschr. f. d. landwirtschaft. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. X. 1907. p. 759.)

Stigmatea Mespili trat im Jahre 1906 geradezu verheerend auf Birnwildlingen in Eisgrub (Mähren) in einer Baumschule auf, so daß daher die Feststellung der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Sorten gegen diesen Schädling als notwendig erschien. Als immun erweisen sich folgende Sorten: Herzogin von Angoulême, Clapps Liebling, Triumph von Jodoigne, Edelcrassane, Minister Dr. Lucius, Gute Luise von Avranghes,

Vereins-Dechantsbirne, Alexander Douillard, van Marums Flaschenbirne, Mouchallard, Napoleon Butterbirne, Siegels Winterbutterbirne, Colomars Herbstbutterbirne. Mittelstark waren befallen die Sorten: Andenken an den Kongreß, Vergouleuse, Pastorenbirne, Winter-Dechantsbirne, Hardy-Butterbirne, Salzburger, Dumonts Butterbirne, Philipp Goes. Stärker befallen waren die Sorten: Blumenbachs Butterbirne, Diels Butterbirne, Clairgeaus Butterbirne, Rotgraue Dechantsbirne, Juli-Dechantsbirne. Sehr stark befallen waren die Sorten: Williams Christbirne, Runde Mundnetzbirne, Solauer, Weiße Sektbirne, Olivier de Serres, Remy Chatenay.

Nach den Beobachtungen in Eisgrub erwiesen sich als immun gegen Septoria lycopersici folgende Paradiessorten: Wunder des Marktes, Up to deat, Mikado, König Humbert. Mittelstark befallen waren die Sorten: Magnum bonum, Prelude, Ponderosa, Präsident Garfield und Alice Roosevelt. Stärker befallen waren die Sorten: Trophy und Ficarazzi. Am wenigsten widerstandsfähig erwies sich die Sorte „Früheste rote Zwerg". Wie bei den Birnsorten, so ist auch bei den Paradiessorten der schwächere oder stärkere mechanische Bau des Blattes für den stärkeren, bezw. schwächeren Befall durch den betreffenden Schädling maßgebend. Bei Septoria lycopersici ist schon zu einer Zeit, wo die Pykniden des Pilzes auf den Blättern noch nicht zum Vorschein gekommen sind, makroskopisch der Befall der Pflanzen durch diesen Pilz sichtbar, indem sich die Teilblätter nach oben oft so weit krümmen, daß die Seitenränder der Blätter sich berühren, wodurch die befallenen Pflanzen ein eigenartiges, sich von den gesunden Pflanzen unterscheidendes Aussehen erhalten. Auf den Früchten hat Verf. den Pilz noch nicht vorgefunden. Immerhin empfiehlt sich aber zur Bekämpfung des Schädlings, die Pflanzen öfters mit einer 1-proz. Kupfervitriolkalkbrühe zu bespritzen. Da die Widerstandsfähigkeit einer und derselben Sorte innerhalb gewisser Grenzen schwankt und diese Schwankungen durch Standorts- und Bodenverhältnisse bedingt werden, so können obige Resultate nicht für alle Fälle, d. h. für alle Standorte und sonstige Vegetationsverhältnisse als geltend betrachtet und auf diese Weise verallgemeinert werden. Stift (Wien).

Niessen, J., Krebs an Kanadapappeln. (Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. Jahrg. V. 1907. p. 502-503. Mit 1 Textab.)

Auf vielen in den feuchten Niederungen des Niederrheins der Holzschuhfabrikation wegen angebauten Kanadapappeln (Populus canadensis L.) fand Verf. einen Krebs, der selbst arm- und beindicke Zweige völlig zum Absterben bringt. Die Untersuchung des Krebses ergab das Vorhandensein der an verschiedenen Laubbäumen vorkommenden Nectria ditissima. Auf Kanadapappeln wurde der Krebs bisher nicht gesehen. Die Abbildung zeigt uns einen vom Krebs befallenen Baum. Matouschek (Wien).

Neger, F. W., Eine Krankheit der Birkenkätzchen. (Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXV. 1907. p. 368—372 1 Textfig.)

Eine häufig zu beobachtende Krankheit der Fruchtkätzchen der Birke besteht darin, daß der vordere Teil vertrocknet und sich bräunt. Wenn derartig erkrankte Kätzchen in eine Petri-Schale gelegt werden, so wächst aus dem abgestorbenen Teil des Kätzchens ein Botrytis-Mycel aus, welches zuweilen auch schon in der freien Natur auftritt. Gleichzeitig enthalten die kranken Kätzchen sehr häufig auch skleroti-

sierte Früchte (verursacht durch Sclerotinia Betulae). Verf. weist nun nach, daß der die Bräunung verursachende Pilz — wahrscheinlich Botrytis cinerea — nicht in Zusammenhang steht mit der die Sklerotisierung verursachenden Sclerotinia. Ersterer ist aber seinerseits auch im stande, Sklerotien zu bilden. Dieselben treten aber nicht an den Früchten, sondern an den Kätzchenschuppen auf, und zwar meist am Mittellappen, seltener auf einem der Seitenlappen.

Demnach sind an Birkenkätzchen zwei verschiedene sklerotienbildende Pilze zu unterscheiden. Die auf den Schuppen sitzenden Sklerotien wachsen nicht zu Apothecien, sondern sofort zu Botrytis aus.

Im Anschluß hieran wird mitgeteilt, daß Sklerotien, welche auf Haselnußblättern beobachtet worden waren, in keinem Zusammenhang stehen mit den nach Schellenberg auf ♂ Haselnußkätzchen wachsenden Sklerotien, sondern höchst wahrscheinlich auch zu Botrytis cinerea gehören. Autoreferat.

Hiltner, Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 8.)

Verf. erwähnt einen Erkrankungsfall bei Kartoffeln, bei dem sich an einer kreisförmigen Stelle Absterben der Pflanzen und Auftreten eines Fusarium bemerkbar machte, und eine neue Krankheit, Kartoffelpest, angenommen wurde. Bei Vergleich der hierbei beobachteten Erscheinungen mit anderen, ähnlichen Vorfällen, denen elektrische Entladungen zu Grunde lagen, kommt Verf. zu der Ansicht, daß derartige kreisförmige Stellen in Kartoffelfeldern als Folge von Blitzschäden eine nicht allzu seltene Erscheinung darstellen. Ehrenberg (Breslau).

Paul, Tipula-Fraß auf Moorwiesen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1907. Heft 7.)

Von der Beobachtung schädigenden Auftretens der Wiesenschnaken auf bayerischen Moorwiesen ausgehend, gibt Verf. Mitteilungen über Leben und Auftreten dieser Tiere, von denen Tipula oleracea, T. nigra, T. paludosa und Pachyrrhina pratensis wie P. maculosa zu nennen sind.

Die Tiere richten einmal durch ihre Larven Schaden an, indem sie Nutzpflanzen abfressen, dann aber wird durch die Beseitigung dieser Gewächse die Verunkrautung der Wiesen befördert. Verschont bleibt nach bisherigen Beobachtungen Agrostis alba. Als Gegenmittel mag Aufhacken der Fraßstellen in Betracht kommen, wodurch die Larven den insektenfressenden Vögeln preisgegeben werden.

Ehrenberg (Breslau).

Smith, B. and **Dickerson, Edgar L.,** The cabbage and onion maggots. (New Jersey Agricultural Experiment Stations. Bulletin 200. 1907. February 12.)

Die Verff. geben in der vorliegenden Arbeit einige Angaben über die Schädlichkeit zweier Maden, die in New Jersey und anderen Staaten von Amerika oft den größten Teil der Ernte zerstören, besonders die der Kohlköpfe, Blumenkohl und anderen Kreuzblütler. Es sind dies die sogenannte Kohlkopfmade Pegomyia brassicae Bouché uud die eingebrachte Zwiebelmade Pegomyia cepetorum Meade.

Die ausgewachsenen Fliegen suchen sich während des Winters eine geschützte Stelle, in Mauerspalten, loser Baumrinde u. s. w. Sobald im Frühjahr das Wetter warm wird, fliegen sie aus und suchen vorzugsweise die Kreuzblütler auf, in deren nächsten Umgebung sie ihre Eier

hinlegen. Das einzelne Ei ist 1/25 Zoll lang, etwas elliptisch geformt, und da es weiß ist, so kann man es mit bloßem Auge erkennen. Von der Stelle, wo das Ei hingelegt wird, hängt es ab, ob die auskriechende Made lebensfähig ist oder nicht, denn befindet sie sich weit von der Pflanze ab, so kann sie ihre Nahrung nicht schnell genug erreichen und stirbt ab. Ist das Ei auf Boden mit harter Oberfläche gelegt worden, so kann die Made den Boden nicht durchdringen, um zu den Wurzeln zu gelangen. Nach 3—4 Wochen ist die Made ausgewachsen, geht dann in den puppenartigen Zustand über, der ungefähr 15 Tage dauert, nach welcher Zeit die ausgewachsene Fliege gebildet wird.

Die Hauptschädigung besteht darin, daß die Made die zarten, frisch gebildeten Wurzeln anfrißt. Sind die Pflanzen noch sehr jung, so sterben sie dann nach kurzer Zeit ab; ältere Pflanzen können sich hingegen in der Regel wieder erholen, da die ersten Wurzeln schon ziemlich hart geworden sind und die Maden nicht in das innere Pflanzengewebe eindringen können. Verff. sind deshalb der Ansicht, so früh wie möglich zu säen oder die Pflanzen zu setzen, damit, ehe die Fliege ihre Eier legt, die Pflanzen schon ziemlich starke Wurzeln gebildet haben.

Um die Wirkungen der Gegenmittel für die Schädigung dieser Maden genauer zu studieren, wurden eine Reihe von Versuchen unter Feldbedingungen auf verschiedenen Stationen durchgeführt. Die Einzelheiten dieser Versuche sind in „The Annual report of New Jersey for 1906" wiedergegeben. Verff. geben eine Reihe von Mitteln an, die Maden zu vernichten, als da sind Karbolsäure, Kalk, gepulverter Tabak, Kleie, Leim, Schwefelkohlenstoff und ölige Mischungen. Der Erfolg durch die Anwendung irgend eines der obengenannten Mittel war aber nur ein sehr geringer. Trieschmann (Bonn).

Douglas, Gertr. E., The formation of intumescences on potato plants. (Botanical Gaz. Vol. XLIII. 1907. p. 233. Mit Textfig.)

Auf Blättern der Kartoffelpflanze entstehen häufig Intumescenzen. Die Untersuchungen ergaben, daß sie nur dann gebildet werden, wenn die Transpiration behindert ist, die Knollen aber dennoch Wasser absorbieren. Außerdem wird die Bildung der Intumescenzen begünstigt durch warmen Boden, verhindert durch kalten Boden und durch völlige Dunkelheit. Licht ist ohne Einfluß. In den hypertrophischen Zellen existiert ein abnormer Zustand des Turgors, hervorgerufen durch die osmotische Wirkung des Zuckers. Der Zucker entsteht teils in den Blättern selbst, teils wird er aus der Knolle zugeführt.

Matouschek (Wien).

Roubaud, E., Biologie larvaire et métamorphoses de Siphona cristata Fabr. Adaption d'une Tachinaire à un hôte aquatique diptère: un nouveau cas d'ectoparasitisme interne. (Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris. T. CXLII. 1906. p. 1438—1439.)

Die Larven der Dipteren aus der Familie Siphona sind im allgemeinen Parasiten von Schmetterlingen, mit Ausnahme von Siphona cristata, die auf Kosten der Larven von Tipula gigantea lebt. Der Verf. hat interessante anatomische Beziehungen finden können, die auf eine Anpassung der Larve an ihren im Wasser lebenden Wirt hinweisen. So lebt die Larve, auch wenn sie alt ist und geradezu im Blute ihres Wirtes schwimmt, doch auch weiterhin von der Luft aus seinen Tracheen, vermittelst eines kleinen Atemtrichters. Zur Zeit der Verpuppung läßt ihr Befestigungsorgan los, die Larven durchbohren mit

ihrem Kopf die Hüllen ihres erschöpften Wirtes und verkriechen sich in der feuchten Erde.

Nach dem Verf. muß man annehmen, daß die Eier der Tachinarie auf den Stigmenkranz der Tipula gelegt werden, und daß die Parasiten beim Auskriechen durch die Stigmata in die Trachealverzweigungen hineingelangen. Dort kommt es durch ihre eigenen Anstrengungen und durch entzündliche Reaktion zur Bildung einer kleinen Ausstülpung einer Trachee, woraus die Cyste, in der der Parasit sitzt, entsteht.

Dieser Larvenparasitismus der Siphona cristata ist so ein neues Beispiel für innerlichen Ektoparasitismus, der in allen Punkten dem durch die Arbeiten von Giard und Bonnier wohlbekannten von Crustaceen gleicht. Es scheint dies die regelrechte Vorbedingung zur Erhaltung der Art zu sein. Houard (Paris).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Deutsch, Ernö, Technische Einrichtungen zur Gewinnung guter Säuglingsmilch. (Zeitschr. f. Säuglingsfürsorge. Bd. I. No. 8. p. 243 und No. 9. p. 279.)

In einer prägnanten Arbeit, die den Vorzug hat, mit vielen Abbildungen versehen zu sein, gibt D., der Chefarzt der Budapester Gratismilchanstalt, das Resumée längerer praktischer und theoretischer Studien über den im Titel genannten Gegenstand. Interessenten sei die Lektüre des Artikels, der allerdings an manchen Stellen etwas zu kurz ist, empfohlen. Albert Uffenheimer (München).

Nowack, K., Untersuchungen über die Zuverlässigkeit der Eijkmanschen Probe. (Mitt. aus der königl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung zu Berlin. Heft 9. 1907.)

Die Eijkmansche Probe ist angegeben zum Nachweis des B. coli im Wasser als Zeichen einer Fäkalverunreinigung. Sie beruht auf der Fähigkeit des B. coli der Warmblüter, Traubenzucker noch bei 46° zu vergären. Verf. hat quantitative Untersuchungen darüber angestellt, ob bei Anwesenheit des B. coli in geringster Anzahl die Eijkmansche Probe positiv ausfällt. Es stellte sich heraus, daß bei 46° Gärung nur dann auftrat, wenn die Anzahl der ausgesäten Coli-Bacillen nicht unter eine gewisse Menge herunterging. Diese untere Grenzzahl war eine sehr wechselnde, sie schwankte zwischen mehreren Zehnern und mehreren Millionen. Mitunter vermehrten sich die Coli-Bacillen bei 46° noch lebhaft, aber eine Vergärung trat nicht auf. Bei einigen gelang es dann durch Weiterbebrütung bei 37° noch Gärung zu erhalten. Hiernach schien die Gärfähigkeit der Coli-Bacillen durch die Temperatur von 46° in der Traubenzuckerpeptonlösung wesentlich geschädigt zu werden. In verdünntem Abwasser, das ohne weiteres nicht mehr die Eijkmansche Probe gab, trat Vergärung auf, wenn es mit verdünnter Bouillon in der Weise wie Petruschky und Pusch den termophilen Titer ansetzen, angereichert worden war. Demnach war der positive Ausfall der Gärungsprobe auch hier allein von der Zahl der ausgesäten Coli-Bacillen und von der Anreicherung abhängig.

Bei schlechten Brunnenwasserproben erhielt Verf. häufiger Vergärung, wenn er vorher eine Anreicherung in Bouillon vornahm. Er nennt diese Probe dann sekundären Eijkman im Gegensatz zu dem primären Eijkman, der mit dem nicht angereicherten Wasser in der

ursprünglichen Form angesetzt wird. Verf. kommt zu folgenden Schlußsätzen:

1) Die Fähigkeit des Bact. coli der Warmblüter, Traubenzucker bei 46 ° zu vergären, ist abhängig von der Menge der ausgesäten Bacillen und bei den einzelnen Stämmen verschieden.

2) Der negative Ausfall der Eijkmanschen Probe in der von Eijkman angegebenen Form („primärer Eijkman") beweist nicht in allen Fällen mit Sicherheit die Abwesenheit von Bact. coli.

3) Der „sekundäre Eijkman", d. h. das Ansetzen der Eijkmanschen Probe aus der Bouillonanreicherung, kann positive Resultate auch in Fällen geben, in denen der „primäre Eijkman" negativ war.

Kurpjuweit (Berlin).

Gosio, B., Studi sulle bioreazioni dell'arsenico, tellurio e selenio. (Il Policlinico. [Ser. pratica.] Anno XIV. Fasc. 7. p. 217.)

Verf. hat die Beziehungen zwischen dem domestischen Arsenicismus und der entsprechenden Flora erforscht, die Hyphomyceten in Reinkulturen gezüchtet, und gefunden, daß dieselben sehr empfindliche Reagentien für alle Arsenverbindungen bilden und unter diesem Standpunkte alle die empfindlichsten chemischen Reaktionen übertreffen. Gosios Methode ist in den Gebrauch aller Laboratorien für Toxikologie und Hygiene eingeführt worden.

In ähnlicher Weise wie die Arsenverbindungen verhalten sich diejenigen des Seleniums und des Telluriums, mit dem Unterschiede, daß alle Mikroorganismen imstande sind, dieselben zu zersetzen. Gosio hat daran gedacht, diese Reaktionen zur Erkennung des mikroorganischen Lebens und besonders zur Erkennung eventueller Verunreinigungen der Kulturmittel und der spezifischen Sera zu verwerten.

In seinem Buche sind all die Einzelheiten über das bisher Gesagte gesammelt und geordnet. Bertarelli (Turin).

Krüger, Zweck und Einrichtung des Versuchsfeldes für bakteriologische Untersuchungen. (Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XXXVI. p. 371.)

Die Aufgabe eines Versuchsfeldes für bakteriologische Untersuchungen besteht darin, auf einem möglichst gleichmäßigem Feld unter den verschiedenen Bebauungsverhältnissen die Entwickelung der niederen Organismen und vor allem die nützlichen und schädlichen Vorgänge durch dieselben kennen zu lernen. Zu den Hauptfragen, deren Lösung einem solchen Versuchsfelde obliegen, gehören daher folgende:

1) Wird der Bestand an niederen Organismen im Boden (schädlicher bezw. nützlicher Art) durch die Düngung, Bestellung und Bearbeitung beeinflußt?

2) Erforschung der nützlichen und schädlichen mikrobiologischen Prozesse im Boden.

3) Haben die durch niedere Organismen im Boden veranlaßten Vorgänge einen Einfluß auf den Ertrag der Kulturpflanzen?

4) Welche Maßnahmen der Kultur erweisen sich in dieser Richtung nützlich oder schädlich?

5) Im besonderen, welches Verhältnis besteht zwischen der Stickstoffernährung der Kulturpflanzen und der Tätigkeit niederer Organismen im Boden?

Verf. gibt an der Hand von Skizzen eine Schilderung der von ihm ausgeführten Anlage des bakteriologischen Versuchsfeldes in Halle a. S.

Das Feld ist in eine Anzahl Schläge eingeteilt, für welche die Fruchtfolgen und Bestellungspläne den zu erforschenden Problemen angepaßt und für eine Reihe von Jahren hinaus festgelegt wurden. Es ist so die Möglichkeit gegeben, die mikrobiologischen Vorgänge im Boden bei Brache, bei verschiedener Bodenbearbeitung und Düngung, beim Anbau von Leguminosen und allen anderen Kulturgewächsen zu verfolgen und zu ergründen. Wegen der Einzelheiten des ganzen Versuchsplanes, welchen Verf. ausführlich mitteilt, sei auf das Original verwiesen.

Seit dem Jahre 1903 sind außerdem bei 2 Landwirten der Provinz Sachsen Versuche im Gange, welche in vergleichbarer Weise die Wirkung der Brache und Gründüngung vorführen, und später zu bakteriologischen Untersuchungen Material liefern sollen.

Vogel (Bromberg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Kranepuhl, Beiträge zur Frage der Abwasserdesinfektion mittels Chlorkalkes. (Mitt. der kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung etc. 1907. Heft 9.)

Seit längerer Zeit ist Chlorkalk von Dunbar, Zirn, Korn, Schuhmacher, ferner von Proskauer und Elsner zur Desinfektion von Abwässern und Gruben empfohlen worden. Verf. hat Versuche mit Berliner Abwasser angestellt, das in 1 ccm mehrere 100000 Coli-Keime enthält. Die Wirkung auf das B. coli wurde als Kontrolle für den Ausfall der Desinfektion angesehen, da dieser Bacillus eine größere Resistenz als alle anderen für eine Desinfektion in Frage kommenden pathogenen Darmbakterien besitzt. Der freie Chlorgehalt des Chlorkalkes schwankte zwischen 25—35 Proz. Nach Ablauf des Versuches, der im wesentlichen nicht länger als 2 Stunden dauerte, wurde das noch vorhandene freie Chlor titrimetrisch festgestellt. Zur bakteriologischen Kontrolle des Versuches verwandte der Verf. die ganze Abwassermenge, indem er es durch Zusatz von Pepton und Kochsalz in eine 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Kochsalz enthaltende Lösung verwandelte. Aus diesen Lösungen wurde nach dem Bebrüten das etwa vorhandene B. coli in der üblichen Weise isoliert und identifiziert. Bei einem Chlorkalkzusatz von $^1/_{7000}$ erzielte der Verf. nur in 45 Proz. der Fälle innerhalb 2 Stunden eine Abtötung der Coli-Keime in frischem Abwasser, bei der Konzentration $^1/_{5000}$ in 64 Proz. der Fälle und bei $^1/_{2000}$ in 79 Proz. Bei 4-stündiger Einwirkung des Chlorkalkes in der Verdünnung $^1/_{2000}$ war die Desinfektion in 90 Proz. der Fälle erfolgreich. In der Konzentration $^1/_{1000}$ ließ sich ein genügender Desinfektionseffekt bei 2-stündiger Einwirkung in etwa 94 Proz., bei 4-stündiger Einwirkung in etwa 100 Proz. erzielen.

Bei noch höheren Konzentrationen wurde in kürzeren Zeiten eine Abtötung des B. coli erreicht.

Verf. kann die von Schuhmacher erhobenen Befunde bezüglich der Chlorkalkkonzentration und Einwirkungsdauer nur bestätigen.

Eine Kontrolle bezw. Beurteilung der ausreichenden Desinfektion auf chemischem Wege, d. h. durch Bestimmung des nach der Einwirkungszeit noch überschüssigen freien Chlors im Abwasser, wie dies Schuhmacher empfiehlt, hält der Verf. nicht für angängig, da in einer Reihe von Fällen das B. coli, trotz eines reichlichen Ueberschusses von Chlor nicht völlig vernichtet war.

Zwecks sicherer Desinfektion empfiehlt er einen Chlorkalkzusatz von 1:1000 Teilen Abwasser oder 1:2000 bei einer Einwirkungszeit von 4 Stunden. Er glaubt aber, daß diese Forderungen in der Praxis vielfach auf Schwierigkeiten stoßen werden. Kurpjuweit (Berlin).

Meyer, Robert, Beitrag zur Selbstreinigung der Flüsse, speziell derjenigen der Töss. [Inaug.-Diss.] 8°. 56 pp. Zürich 1907.

Die im hygienisch-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums angefertigte Arbeit untersucht Proben bei der Brücke im Haard bei Wülflingen und solche von einer 9 km weiter flußabwärts gelegenen Stelle.

An beiden läßt sich eine rasche Ammoniakabnahme feststellen, die sich am besten durch Verdunstung erklären läßt.

An beiden Orten ist eine Abnahme der Keimzahl zu konstatieren.

In beiden Fällen ist die Bestimmung der Keimzahl ein nicht zu unterschätzendes Mittel zur Beurteilung der Provenienz der verunreinigenden organischen Stoffe.

Die Abnahme der Keimzahl muß in der einen untersuchten Strecke anders gedeutet werden als in der anderen.

Zwischen Haard und Rorbas ist diese Abnahme als das Resultat rein äußerer Einwirkungen zu betrachten, wie Kälte, Luft, Licht. Sie wird durch diese Faktoren genügend erklärt und man braucht somit zur Erklärung dieser Erscheinung nicht auf eine Selbstreinigung von organischen Stoffen zu greifen, um so mehr, als die suspendierten Bestandteile bei den Untersuchungen des Verf. keine wesentliche Verminderung erfuhren.

Auf der kurzen Strecke bei Töss dagegen steht die Keimverminderung direkt im Zusammenhang mit der Abnahme der suspendierten Stoffe.

Sie ist gewissermaßen ein Index für diese.

Die Resultate der Arbeit zeigen deutlich, wie verschieden auch hier in jedem Fall solche Resultate gedeutet werden müssen, und bestätigen somit die Ansicht, daß jeder Wasserlauf seinen ganz besonderen Charakter haben kann und daß nur eingehende Untersuchungen in jeden einzelnen Fall über die Verhältnisse betreffend Verunreinigung und Selbstreinigung Klarheit zu schaffen vermögen.

An Literaturangaben finden sich 26 verzeichnet.

E. Roth (Halle a. S.).

Stubenrauch, Zur Vertilgung des Kiefernbaumschwammes. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. 1907. Heft 8.)

Nach einer Betrachtung über Rentabilitätsfragen bei der Verwertung schwammkranken Holzes kommt Verf. auf die zweckmäßigste Vertilgung des Kiefernbaumschwammes zu sprechen, wobei er sich gegen eine Bekämpfung durch bloßes Abstoßen der Pilzkonsolen aus dem Grunde wendet, weil dann diese Arbeit sich über Jahre erstrecken würde, auch der Fäulnisprozeß in den erkrankten Stämmen weitergeht. Dagegen wird ein möglichst energischer Aushieb als erste Maßregel empfohlen. Es folgen dann wieder Berechnungen über die Wirtschaftlichkeit und Durchführbarkeit eines starken Schwammholzaushiebes in der Hauptnutzung. Ehrenberg (Breslau).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Bebber, A., Zufalls-Rebenschädlinge. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXV. 1907. N. 51. p. 471.)

Brunet, Raymond, L'écaille martre. (Rev. de viticult. Année XV. 1908 N. 733. p. 5. 1 Taf.)

Carpenter, G. H., Injurious insects and other animals observed 1906 in Ireland. (Economic Proc. of the R. Dublin Soc. Vol. I. 1907. Parts 10/11. 32 p. 8⁰. 6 Taf. u. 11 Fig.) 2 M.

Chittenden, F. H., The water-cress sowbug. The water-cress leaf-beetle. Washington (Gov. Print. Off. 1907. III, p. 11—20. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of entomology. Bulletin. N. 66. P. 2.)

—, The asparagus miner. Notes on the asparagus beetles. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. III, 10 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of entomology. Bulletin. N. 66. P. 1.)

Collinge, W. E., Report on the injurious insects and other Animals observed in the Midland counties during 1906. (Report 4.) Birmingham 1907. 46 p. 7 Taf. u. 9 Fig. 8⁰.

Degeneration in Potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 7. p. 385—389. 1 Taf.)

Der Steinbrand. (Schweizerische Samen-Unters. u. Versuchsanst. Zürich. Flugblatt N. 2. Sept. 1907. 8⁰. 2 p. 1 Fig.)

Dewitz, J., Die Bekämpfung des einbindigen und des bekreuzten Traubenwicklers. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXVI. 1907. Heft 5/6. p. 959—997. 2 Taf. u. 14 Fig.)

Fuller, Claude, The scale insects, bark lice and mealy bugs. (Natal agric. Journ. Vol. X. 1907. N. 9, p. 1031—1055. 6 Taf. u. Fig.)

Garden pests, and how to treat them. (Journ. of Depart. of agricult. Western Australia. Vol. XV. 1907. P. 9. p. 677—691. 14 Fig.)

Gooseberry „clustercup“ disease. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 7. p. 428—429. 1 Fig.)

Henry, E., La maladie du Sapin dans les forêts du Jura. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 18. p. 725—727.)

H. K., Schmarotzer, Ungeziefer und Vögel beim Obstbau. (Gartenflora. Jg. LVI. 1907. Heft 21. p. 562.)

Hooker, W. A., The tabacco thrips, a new and destructive enemy of shade-grown tobacco. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 24 S. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of entomology. Bulletin. N. 65.)

Hooper, T., Fruit fly. Instructions to fruit growers. (Journ. Depart. agric. Western Australia. Vol, XV. 1907. P. 9. p. 696—697.)

Hori, S., A disease of the Japanese Ginseng caused by Phytophthora cactorum (Con. et Leb.) Schröt. (Bull. of the Imper. Central Agric. Experiment Station Japan. Vol. I. 1908. N. 2. p. 153—162. 1 Taf.)

Köck, G., Ueber die Widerstandsfähigkeit verschiedener Birnsorten gegen die Blattbräune (Stigmatea Mespili) und verschiedener Paradiessorten gegenüber Septoria lycopersici. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. Oesterr. Jg. X. 1907. Heft 10. p. 759—761.)

Korff, G., Ueber außergewöhnlich starkes Auftreten der Apfelblattmotte im laufenden Jahre. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 10. p. 112—113.)

—, Ueber die bakterielle Gummosis des Weinstockes (Gommose bacillaire de la vigne). (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. N. 9. p. 97—101. 1 Fig.)

Krause, Fritz, Die Krautfäule der Kartoffeln. (Braunschweig. landw. Ztg. Jg. LXXV. 1907. N. 36. p. 157.)

Krüger, Fr. und **Rörig, G.**, Krankheiten und Beschädigungen der Nutz- und Zierpflanzen des Gartenbaues. Stuttgart (Ulmer) 1908. VIII, 212 p. 8⁰. 4 farb. Taf. u. 224 Fig. 6 M.

Lindemuth, H., Studien über die sogenannte Panaschüre und über einige begleitende Erscheinungen. (Landw. Jahrbücher. Bd. XXXVI. 1907. Heft 5/6. p. 807—862. 2 Taf. u. 16 Fig.)

Locusts in July. (Natal agric. Journ. Vol. X. 1907. N. 8. p. 925—927.)

Lounsbury, C. P., Tha locust plague. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXI. 1907. N. 2. p. 168—174.)

—, Vine mildew or Peronospora. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXX. 1907. N. 3. p. 330—332.)

Lüstner, Gustav, Fortschritte bei der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes (Eudemis botrana). (Die Weinlaube. Jg. XXXIX. 1907. N. 49. p. 575—577.)
Mangin, L., Sur la signification de la „maladie du Rouge" chez le Sapin. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 22. p. 934—935.)
Mac Dougall, R. Stewart, Grain weevils. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 7. p. 412—415. 1 Fig.)
— —, The larch shoot moth (Argyresthia [Tinea] laevigatella). (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 7. p. 395—399. 3 Fig.)
Mitteilung der Abteilung für Pflanzenkrankheiten Bromberg. Rost an den Herbstsaaten. (Landw. Centralbl. Jg. XXXV. 1907. N. 47. p. 523—525.)
Molz, Emil, Untersuchungen über die Chlorose der Reben. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XIX. 1907. N. 21/23. p. 715—734; N. 24/25. p. 788—799.)
Morstatt, H., Die Rübenkrankheiten und ihre Bekämpfung. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer Wiesbaden u. Ztschr. d. Ver. nass. Landwirte. Jg. LXXXIX. 1907. N. 40. p. 247—248.)
Neue Untersuchungen über Entstehung und Bekämpfung der Chlorose der Reben. (Mitt. d. Dtschen Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 12. p. 403—419.)
Neue Erfahrungen bei der Heuwurmbekämpfung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XV. 1907. N. 46. p. 422—423.)
Niessen, J., Krebs an Kanadapappeln. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. V. 1907. Heft 10. p. 502—503. 1 Fig.)
Notes on insect fungus and other pests. (Journ. of the board of agric. Vol. XIV. 1907. N. 7. p. 415—417.)
Prillieux et **Maublanc,** La maladie du Sapin pectiné dans le Jura. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 18. p. 699—701.)
Reh, L., Insektenschäden im Frühjahre 1907. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstw. Jg. V. 1907. Heft 10. p. 492—499.)
Sauzeau de Guyberneau, Procédé nouveau pour la destruction des larves de moustiques. (Ann. d'hyg. et de méd. colon. T. X. 1907. N. 4. p. 628—629.)
Sawer, E. R., The cultivation of sugar beet. (Natal agric. Journ. Vol. X. 1907. N. 8. p. 883—887. 3 Taf.)
Schnegg, H., Eine Bakterienkrankheit des Grünmalzes. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXX. 1907. N. 48. p. 588—591; N. 49. p. 600—602; N. 50. p. 608—612; N. 51. p. 623—625.)
Schultz, G., Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenschutz. Jg. V. 1907. N. 9. p. 101—103.)
Smith, Erwin F., A plant tumor of bacterial origin. (Science. N. S. Vol. XXV. 1907. p. 671—673.)
Spieckermann, Kartoffelpest oder Blitzschlag. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenschutz. Jg. V. 1907. Heft 9. p. 103—104.)
Stead, David G., Fishes as Mosquito destroyers in New South Wales. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 9. p. 762—764.)
Takahashi, T., Studies on diseases of Saké. (Bull. College of agric. Tokyo Imp. Univ. Japan. Vol. VII. 1907. N. 4. p. 531—563.)
Wahl, Bruno, Ueber einen eigenartigen Befall der Gerste durch die Halmfliege. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. Oesterreich. Jg. X. 1907. Heft 10. p. 750—756. 1 Fig.)
Zeissig, R., Reblaus und Rekonstruktion der Weinberge im Kanton Tessin. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXV. 1907. N. 50. p. 462.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Balles, L., Die Bekämpfung des Frostspanners nach dem neuesten Stande. Karlsruhe (Reif) 1997. 12 p. 1 Fig. —,20 M.
Boas, J. E. V., Ueber eine den Maikäferjahren analoge Erscheinung bei Saperda populnea. (Zool. Jahrb. Abt. f. Systemat, Bd. XXXVI. 1907. Heft 2. p. 313—320. 1 Taf.)
Boutan, Louis, Action du froid dans le traitement des caféiers contre le borer indien (Xylotrechus quadrupes). (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLV. 1907. N. 9. 464—466.)
Briem, H., Ein Hoffnungsstrahl zur Beschränkung der Nematodenschäden. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XIV. 1907. N. 14. p. 209—213.)
Dewitz, J., Bekämpfungsversuche gegen den Heuwurm an der Mosel im Sommer 1907. (Mitt. d. Dtschn Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 11. p. 372—377.)
Gisevius, Paul, Schädliche Pflanzen und Pflanzenschutz. (Dtsche Landw.-Ztg. Jg. L. 1907. N. 33. p. 129.)
Gordan, P., Ein billiges, einfaches Verfahren, um Ameisen zu vernichten. (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. XII. 1907. N. 30. p. 203—204.)
Grimm, Bekämpfung der Erdflöhe. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 6. p. 70—71.)
Grimm, Arthur M., Bekämpfung der Blättläuse auf Obstbäumen und Hopfen. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 31. p. 243.)

Hiltner, L., Ueber die Prüfung uud Beurteilung neu auftauchender Pflanzenschutzmittel. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. Heft 10. p. 109—112.)
Hovny, Die Bekämpfung der Feldmäuse. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer Wiesbaden u. Ztschr. d. Ver. Nass. Landwirte. Jg. LXXXIX. 1907. N. 39. p. 241—242.)
Insecticides. (Natal agric. Journ. Vol. X. 1907. N. 9. p. 1123—1125.)
Korff, Gustav, Pflanzenschutz in: Bericht über die Tätigkeit der kgl. Agrikulturbotanischen Anstalt in München i. J. 1906. Erstattet von L. Hiltner. München 1907. p. 332—411.)
Kulisch, Paul, Ueber das Pflanzenschutzmittel „Reflorit". (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXV. 1907. N. 25. p. 617—618.)
—, Ueber die Verwendung der Azurine zur Bekämpfung der Peronospora. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXV. 1907. N. 26. p. 641—643.)
Kindshoven, J., Bericht über die im Jahre 1907 versuchsweise angewendeten Pflanzenschutzmittel „Probat", „All Liquid Insecticide", Richards Nikotinverdampfer etc., angewendet im Frühgemüsebau, Treibkästen etc. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau. Jg. V. 1907. N. 10. p. 113—116.)
Lüstner, Gustav, Ueber ein neues Verfahren zur Bekämpfung des Heuwurmes. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. II. 1907. N. 11. p. 365—371.
—, Untersuchungen über den Einfluß des Carbolineums auf die Bäume. (Ber. d. k. Lehranst. f. Wein-, Obst- u. Gartenbau Geisenheim a. Rh. f. 1906. Berlin 1907. p. 141—145.)
Orsi, Alois, Die Unkrautbekämpfung auf Feld und Wiese. Leipzig (Voigt) 1908. 43 p. M. Fig. —,80 M.
Raebiger, H., Zum Schutz unserer Haustiere gegen die Fliegen. (Braunschw. landw. Ztg. Jg. LXXV. 1907. N. 36. p. 157—158.)
Regula, Josef, Schutz der Saatkämpe gegen Vogelfraß. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXIII. 1907. N. 21. p. 164.)
Scott, W. M. and **Quaintance, A. L.**, Spraying for apple diseases and the codling moth in the Ozarks. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 42 S. 8°. (= U. S. Dep. of Agric. Farmers' Bulletin. N. 283.)
The Tyree Spraying machine. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVIII. 1907. P. 9. p. 765—766. 1 Fig.)
Zatzmann, J., Stand der Peronosporabekämpfung nach den Erfahrungen des Jahres 1907. (Weinbau u. Weinhandel Jg. XXV. 1907. N. 39. p. 358—359; N. 40. p. 365—366.)

Inhalt.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 6. März 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 21/23.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Erscheinung der Flockenbildung oder Agglutination bei Alkoholhefen[1]).

Von Prof. **Beijerinck.**

Sofort nachdem das Reinzuchtverfahren auf Preßhefe angewandt wurde, stellte es sich heraus, daß die Reinhefe beim Heruntersinken nicht flockt oder agglutiniert, wie das bei roh kultivierter Hefe immer mehr oder weniger deutlich stattfindet, und daß letztere Hefe eine kürzere Zeit zum Absetzen braucht wie erstere.

Die Ursache dieser in mehreren Richtungen wichtigen Erscheinung beruht auf zwei gänzlich verschiedenen Umständen, nämlich, erstens auf der Existenz von gewissen, in der rohen Preßhefe nicht seltenen Hefearten, welche, an und für sich, also auch in Reinzucht das Vermögen besitzen, stark zu flocken, gerade also wie die Unterhefe, wovon sie jedoch gänzlich verschieden sind, weil sie, wie die Preßhefe selbst, sich als Oberhefen herausstellen (Autoagglutination), und, zweitens darauf, daß einige Bakterienarten, welche zu den aktiven Milchsäurefermenten gehören, die Eigenschaft haben, die an und für sich nicht flockenden Hefearten zur Flockung zu bringen (symbiotische Agglutination).

1. Die autoagglutinierenden Hefen.

Bezüglich der Autoagglutination mag folgendes bemerkt werden:

Eine starke Autoagglutination zeigt die gewöhnliche Unterhefe der Bierbrauereien, welche eben wohl durch diese Eigenschaft ihren Namen bekommen hat, während die Braueroberhefe ohne Bakterien nicht agglutiniert, und worauf ein in § 4 beschriebenes einfaches Verfahren zu basieren ist, um beide nebeneinander ziemlich genau quantitativ zu bestimmen. Ferner kommt diese Erscheinung vor bei einer in Preßhefe nicht seltenen besonderen Maltosehefe, welche schon von Pasteur entdeckt und beschrieben ist unter dem Namen „levûre caséuse“ [2]) und wofür ich den Namen Saccharomyces curvatus vorschlage, wegen der gekrümmten Gestalt derjenigen Zellen, welche beim Plattenverfahren sich verlängern, während die kürzeren Zellen nicht von Preßhefen zu unterscheiden sind. Auch sind die Kolonieen auf Würzeplatten bei dieser Art am Rande eigentümlich aufgebogen, wodurch dieselbe oft in einem Gemische leicht erkenntlich ist. Da sie beinahe ebenso kräftig gärt und wächst, wie die Preßhefe selbst, und sich während und nach der Gärung mit erstaunlicher Schnelligkeit und Vollkommenheit absetzt, verdient diese Art die besondere Aufmerksamkeit der Physiologen.

Sie bildet einen Teil der gewöhnlichen Bäckerhefe, doch findet sie

1) Die Worte „Flockenbildung“ und „Agglutination“ werden im folgenden als Synonyme gebraucht, doch muß bemerkt werden, daß es sich hierbei um Vorgänge handelt, welche von der Agglutination beweglicher Bakterien verschieden sind, obschon in allen Fällen der auf irgend eine Weise erzeugte, den Mikroben anhaftende Schleim als nächste Ursache anzunehmen ist.

2) Études sur la bière. 1896. p. 196.

sich darin so selten, daß die Isolierung ohne eine vorläufige Anhäufung nicht gelingt. Diese Anhäufung kann, wenigstens für die holländische Preßhefe, soweit nach dem alten Wiener Verfahren gearbeitet wird, auf folgenden Umstand gegründet werden: Die Curvatus-Hefe ist gegenüber excessiven oder schädlichen Bedingungen weniger empfindlich wie die Preßhefe selbst.

Als solche Bedingungen können nun besonders folgende praktisch verwendet werden: Erhitzung, Thermokultur, Fäulnis und langes Aufbewahren, und Einwirkung von giftigen Dünsten, wie von Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Alkohol etc. Alle diese Umstände können bei richtiger Anwendung eine relative Vermehrung der Curvatus-Hefe gegenüber der Preßhefe herbeiführen. Als Beispiel will ich das Fäulnisverfahren etwas näher besprechen. Gewöhnliche Preßhefe wird unter einer Glasglocke, um die Verdunstung einzuschränken, im erwärmten Zimmer einfach der sauren Verderbnis überlassen. Es entstehen dabei massenhaft Milchsäurefermente und meistens auch viel Mycoderma. Die Preßhefezellen sterben dagegen schnell ab. Es wird nun etwas von diesem Material in angesäuerter Würze bei 38° C und mit partiellem Luftabschluß ausgesät, damit Mycoderma zurücktreten und S. curvatus sich anreichern soll.

Weil diese Hefe schnell und leicht zu Boden sinkt, sammelt man etwas von dem Präzipitat und macht davon eine Reinkultur auf einer Würzeagar- oder Würzegelatineplatte, wobei die nun zahlreich vorhandenen Kolonieen sich leicht zwischen den übrigen Arten erkennen und aufheben lassen. Weil die Agglutinierung der Würzekulturen eine sehr vollkommene ist, und noch kräftiger sein kann als die durch Milchsäurefermente bewirkte Agglutinierung der gewöhnlichen Preß- und Bierhefe, ist die ganze Erscheinung eine höchst auffallende und interessante, welche sich gut für einen Vorlesungsversuch eignet.

Obschon das Absetzen so schnell und vollständig stattfindet, daß es sich als eine technisch brauchbare Eigenschaft herausstellt, konnte in Versuchen in größerem Maßstabe die Curvatus-Hefe die Preßhefe nie völlig ersetzen, weil ihre Triebkraft, sich wenigstens in Brotteig, als etwas niedriger ergab, vielleicht weil die Verteilung derselben in der zähen Masse auf Schwierigkeiten stößt. Andererseits vergärt diese Hefe Maltose und Saccharose bei Laboratoriumsversuchen nahezu mit gleicher Intensität wie Bier- und Preßhefe.

Daß langes Aufbewahren von Preßhefe zu einer relativen Anhäufung der Curvatushefen führen kann, ergibt sich schon aus dem Umstande, daß im Schlamme des Stadtgrabens zu Delft relativ leicht Curvatus-Hefe zu finden ist; und daß auch die Methode der Thermokultur, d. h. das Kultivieren bei oder oberhalb dem Temperaturmaximum der Preßhefe, zur Anreicherung der mehr thermophilen Hefen zum Hervortreten von S. curvatus Veranlassung geben kann, hat sich bei vielen Kulturversuchen gezeigt, welche mit Preßhefen verschiedener Herkunft ausgeführt sind, und wobei auch noch andere charakteristische Hefen entdeckt wurden, worüber jedoch erst später zu berichten ist.

Die Einwirkung von flüchtigen Giften läßt sich am besten wie folgt feststellen: Es werden in einer Glasdose nebeneinander aufgestellt eine kleine Schale mit der zu untersuchenden Hefe in dickbreiigem Zustande, und eine zweite Schale mit dem leicht verdunstenden Stoff. Der Dampf verbreitet sich durch den Raum und es findet nun ein Absterben der verschiedenen Mikrobenarten statt, in der Reihenfolge ihrer Empfindlichkeit dem gewählten Gifte gegenüber, welche Reihenfolge durchaus nicht

die nämliche ist für die verschiedenen Körper. Es kamen zur Untersuchung Toluol, Schwefelkohlenstoff, Aether, Chloroform, Alkohol, Ammon und Salzsäure, welche bei der Einwirkung auf Preßhefe schließlich nur die sporenbildenden Bakterien lebendig zurückließen. Die Untersuchung geschieht durch zahlreiche kleine Prisen, welche dem Hefebrei mit dem Platinfaden nach bestimmten Zeitintervallen entnommen werden und auf Würzegelatineplatten ausgesät werden. Werden diese richtig gewählt, so läßt sich zeigen, daß die autoagglutinierende Curvatus-Hefe sich unter dem Einfluß der Dämpfe in holländischer Bäckerhefe relativ anhäuft, nachdem die eigentliche Preßhefe schon größtenteils abgestorben ist.

In dritter Linie habe ich hier als autoagglutinierend zu verzeichnen eine eigene Varietät der gewöhnlichen Preßhefe selbst, welche darin früher nicht gefunden wurde, jedoch, seitdem man bei den Preßhefefabriken das Lufthefeverfahren einführte, ein nicht gerade seltener Komponent davon geworden ist. Außer der Agglutination sowie einem etwas geringeren Vergärungsgrad (wohl infolge der schwierigeren gleichmäßigen Verteilung in der Würze) konnte ich keine Verschiedenheiten hinsichtlich dieser Hefe und der Preßhefe selbst auffinden.

Als weitere sehr eigentümliche, selbstagglutinierende Art muß eine Saccharosehefe angeführt werden, welche weder Maltose noch Laktose vergärt, die als Verunreinigung von Lufthefe isoliert wurde und in meinem Laboratorium Saccharomyces muciparus genannt wird. Diese Art ist nahe verwandt mit der früher kurz beschriebenen Saccharomyces fragrans, einer nicht agglutinierenden, leicht kenntlichen Art, welche als stetiger Bewohner des Sauergutes sofort die Aufmerksamkeit auf sich zieht, dadurch, daß dieselbe (mit einer nahe verwandten Art S. disporus[1])) die hohen Temperaturen der Säuerungsverfahrens bei der Herstellung des Sauergutes, ohne abzusterben, vertragen kann, während dabei die Preßhefe selbst, die Weinhefe, die Monilien, die Chalaren, die Oidien und die Dematien ausnahmslos absterben und nur gewisse Mykodermen noch mit am Leben bleiben, welche letztere dem erfahrenen Forscher jedoch niemals Sorge machen. Ich erwähne diese verwandtschaftliche Beziehung der Muciparus-Hefe mit S. fragrans hier deshalb speziell, weil ich vermute, daß auch erstere Art wohl in Sauerguten vorkommen wird, obschon ich dieselbe darin noch nicht auffand, sondern, wie gesagt, nur in der Lufthefe.

Diese Hefe ist bemerkenswert durch ihre eigentümliche Variabilität; man kann beinahe sagen durch ihre Pleomorphie. Man findet nämlich, daß alte Gelatinekulturen sich regelmäßig in zwei durchaus verschiedene Formen spalten, nämlich in eine Form mit runden und elliptischen Zellen, welche mit der Hauptform identisch ist, und eine zweite, welche aus wahren Mycelfäden besteht. Uebrigens stimmen diese beiden Formen in physiologischer Hinsicht nahe überein. Dennoch kann man sich kaum zwei Hefearten denken, welche mehr voneinander verschieden wären, als Hauptform und Variante eben dieser Art. Sporenbildung ist ziemlich selten beobachtet, vielleicht nur deshalb, weil das früher beschriebene Verfahren[2]), um die Sporen erzeugenden Individuen anzuhäufen, hier noch nicht angewandt wurde.

Muciparus gehört zu den kleineren Hefen, und deren elliptische Hauptform mißt ca. 4—6 μ, während der mycelartige Variant zwar sehr

1) Diese sehr verbreitete und eigentümliche Hefe wurde vom chemischen Ingenieur Herrn N. L. Swart entdeckt.

2) Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 658.)

lang wird, meistens jedoch dünn bleibt, und bei schlechten Ernährungsverhältnissen so dünn wie Fadenbakterien werden kann.

Mit dieser kurzen Uebersicht schließe ich die Betrachtung der selbstflockenden Hefen und gehe über zur Besprechung der Erscheinung als Bakterienwirkung.

2. Hefeagglutination durch Symbiose mit Lactococcus.

Herr Barendrecht ist der erste gewesen, welcher eine Hefeflockende Bakterie unter dem Namen Leuconostoc agglutinans beschrieben hat[1]). Außer dieser gibt es noch mehrere andere agglutinierende Bakterien. Alle diese gehören zu den aktiven Milchsäurefermenten[2]) der Gärungsindustrie, und können in die „physiologischen Gattungen“ Lactococcus und Lactobacillus untergebracht werden, wobei dann der Name Leuconostoc agglutinans in Lactococcus agglutinans zu verwandeln ist, weil es sich hier um ein Streptococcus-artiges Milchsäureferment handelt, welches mit den gewöhnlichen Laktokokken der Milchwirtschaft unzweifelhaft verwandt, obschon davon verschieden ist, und z. B. aus Maltose viel mehr Säure erzeugt.

Lactococcus agglutinans, welcher in verschiedenen Varietäten vorkommt, kann leicht aus Lufthefe isoliert werden, worin diese Art in genügender Anzahl vorkommt, um in Kolonieenkulturen von Lufthefe auf Würzeplatten, welche bei 23° C kultiviert sind, sofort als kleine, ziemlich fest zusammenhängende mehr trockene als schleimige Kolonieen zwischen den Hefen erkannt zu werden.

Hat man keine Lufthefe zur Verfügung, sondern nur gewöhnliche Handelshefe, so ist es besser, ein Anreicherungsverfahren vorhergehen zu lassen.

Eine wissenschaftliche Anhäufung erfordert aber, daß man bekannt ist mit den Gruppeneigenschaften der anzuhäufenden Formen. Diese sind im vorliegenden Falle sofort anzugeben, wenn man weiß, daß unsere Bakterie zu den aktiven Milchsäurefermenten gehört. Diese Fermente nun haben die folgenden allgemeinen Eigenschaften: Sie können anaërob wachsen und dennoch meistens (nicht immer) durch aërobe Plattenkulturen isoliert werden. Sie verwenden Zucker als Kohlenstoffquelle und Pepton als Stickstoffnahrung und die optimale Wachstumstemperatur liegt für Lactococcus bei ca. 30° C. Dadurch kommt man leicht zu folgendem einfachen Anhäufungsverfahren: Eine gewöhnliche Stöpselflasche wird gänzlich mit durch Kochen luftfrei gemachter Würze angefüllt, mit roher Preßhefe infiziert und im Thermostaten bei 30° C kultiviert. Schon nach 24 Stunden zeigt sich eine ziemlich starke Alkoholgärung und aus der Flüssigkeit sieht man beim Stehen schwach agglutinierte Hefe nach und nach untersinken. Die gewöhnlichen Verunreinigungen der Hefe, wie Mycoderma und die Essigbakterien, sind durch diese erstere Kultur schon vollständig beseitigt, die aktiven Alkoholhefen jedoch noch nicht genügend. Um auch letzteres zu erreichen, wird ein Tropfen der ersten Kulturflasche in eine neue, der ersten gleiche Flasche übergeimpft und wieder bei 30° kultiviert. Nun verschwindet die Preßhefe beinahe oder gänzlich, und zwar bekommt man eine schwache, von Milchsäurefermenten hervorgerufene Kohlensäureentwickelung[3]), zugleich

1) Dieses Blatt. Bd. VII. 1901. p. 623.

2) Essigbakterien, welche Hefe agglutinieren, gibt es nicht.

3) Merkwürdigerweise handelt es sich hierbei um eine Alkoholgärung, so daß diese Milchsäurefermente zugleich Alkoholfermente sind. Auf diesen Umstand wird später mit analytischen Belegen zurückgekommen werden, und zwar in Verbindung mit der

mit einer starken Milchsäurebildung, welche in Würze von 12 Saccharometergraden in 3 Tagen 12—15 ccm pro 100 ccm betragen kann.

Wird nun hiervon auf eine Würzeagarplatte ausgesät, so entwickelt sich nach weiteren 24 Stunden bei 30° C eine Kultur von verschiedenen Milchsäurefermenten, worunter sich Lactococcus agglutinans in großer oder sehr großer Anzahl vorfindet und sich leicht abheben läßt, indem die Kolonieen etwas schleimig sind und in einem Stücke am Platinfaden hängen bleiben. Weil diese Eigenschaft der Schleimbildung jedoch leicht verloren gehen kann, muß man, im Falle keine schleimigen Kolonieen gefunden werden, einfach gut entwickelte Streptokokkenkolonieen wählen. Die bei diesem Versuche meistens zu gleicher Zeit auftretenden Lactobacillen agglutinieren nach meiner bisherigen Erfahrung nicht; um solche zu erhalten, muß ein anderer Weg befolgt werden, worauf ich unten zurückkomme. Hier muß noch speziell darauf hingewiesen werden, daß für die Flaschenkultur die Temperatur von ca. 30° ganz essentiell ist, wird diese nicht eingehalten, sondern durch 40° C ersetzt, so wird Lactococcus agglutinans vollständig verdrängt durch das gewöhnliche Milchsäureferment der Gärungsindustrie, nämlich durch Lactobacillus fermentum oder dessen abgeleitete Form, L. Delbrücki, welche durchaus nicht zur Hefeagglutination Veranlassung geben.

Es braucht kaum gesagt zu werden, daß andere Materialien als Preßhefe, z. B. die verschiedenen Grundstoffe oder Flüssigkeiten der Gärungsgewerbe, Milch, Gartenerde, Früchte u. s. w., auf dieselbe Weise für Anhäufungsversuche der agglutinierenden Kokken verwendet werden können, wie die Preßhefe selbst. Man kommt dabei zu dem Resultate, daß diese Mikroben keine weite Verbreitung besitzen und am sichersten, außer aus Hefe, aus gärenden Würzen der verschiedensten Herkunft isoliert werden können.

Nimmt man den Namen Lactococcus agglutinans in der weitesten, man könnte sagen Linnéschen Speciesfassung, so gehören dazu alle in Würze viel Milchsäure produzierenden Lactokokken, welche wohl mit Maltose, aber nicht mit Milchzucker wachsen und sich deshalb in Milch nicht entwickeln. Dennoch ist nicht daran zu zweifeln, daß sie mit den gewöhnlichen Kokken der Milch- und Rahmsäuerung, nämlich Lactococcus lactis, sowie mit dem Fermente der „lange Wei", Lactococcus hollandicus, nahe verwandt sind.

Eine sehr wichtige Eigenschaft von L. agglutinans besteht darin, daß beim Aufbewahren der Kulturen auf Würzeagar bei Luftzutritt das Vermögen, Hefe zu agglutinieren, nach einigen Wochen verloren geht, bei Zimmertemperatur z. B. schon nach 3 Wochen oder bei gewissen Varietäten nach ein paar Monaten. Aeußerlich haben die Kolonieen sich dabei nicht abgeändert und auch die Säurebildung kann ungeschwächt sein, nur bemerkt man, daß die schleimbildenden Varietäten, deren Kolonieen von den Platten leicht in einem Stücke entfernt werden können, auch diese Eigenschaft verloren haben und ganz weich und halbflüssig fortwachsen, wodurch sie große Analogie mit dem Lactococcus hollandicus zeigen, welcher ebenfalls sehr leicht das Vermögen der Schleimbildung verliert. Auch die Ursache des Verlustes ist in beiden Fällen dieselbe, nämlich Kultur bei zu hoher Temperatur und bei zu reichlicher Lüftung. Schränkt man den Luftzutritt und die Wärme genügend ein, z. B. durch Kultur im Keller in geschlossenen, gänzlich angefüllten Flaschen, so bleibt das Aggluti-

Mannitbildung aus Lävulose, welcher Vorgang für die Milchsäurefermente ebenfalls charakteristisch ist.

nierungsvermögen unverändert fortbestehen, eben wie das Vermögen der Schleimbildung bei der „lange Wei", weshalb einiger Grund vorliegt, die Agglutinierung auf Schleimbildung seitens der Bakterien zurückzuführen. Weil aber manche Hefe stark agglutinierende Bakterien ganz weiche Kolonieen erzeugen und niemals als fadenziehende Kulturen erhalten werden, muß dann auch geschlossen werden, daß in letzterem Falle die Schleimbildung ebensosehr unter dem Einfluß der Hefe steht, wie unter dem der Bakterie selbst.

Ein anderes und sehr einfaches Verfahren, um L. agglutinans vor dem Verlust des Agglutinationsvermögens zu schützen, besteht darin, daß man die Kulturen auf Würzeagar an der Luft zusammen mit reinkultivierter Preßhefe aufbewahrt, das Gemisch beider Mikroben auch als solches überimpft, und zwar auf die gewöhnliche Weise als Kulturen in Reagenzröhrchen. Schon jetzt weiß ich, daß bei diesem Verfahren, wenigstens während eines ganzen Jahres (ich vermute auch viel länger), keine Verminderung des Agglutinationsvermögens stattzufinden braucht.

In dieser Beziehung mag noch folgendes bemerkt werden:

Das Verhalten von L. agglutinans zur Preßhefe ist ein sehr bemerkenswertes, auch bei der symbiotischen Kultur beider Mikroben auf festem Boden, wo von Agglutination natürlich keine Rede sein kann. Es stellt sich nämlich heraus, daß unsere Bakterie mit ganz auffallender Leichtigkeit durch die wachsenden Hefekolonieen selber fortwächst (beweglich sind die Milchsäurefermente niemals), so daß man nur selten halb mit L. agglutinans infizierte Hefekolonieen antrifft, wie das bei Essigbakterien und anderen Milchsäurefermenten, welche bei Aussaaten von Rohhefen mit auf den Platten wachsen, so oft vorkommt, sondern gewöhnlich überall in der Kolonie auch die Bakterie findet. Merkwürdiger noch wird dieser Umstand dadurch, daß man in manchen Fällen die mit L. agglutinans zufällig infizierten Kolonieen sofort erkennen kann an ihrer stark ausgeprägten und sehr frühzeitig sichtbar werdenden gekräuselten Oberfläche, wodurch es bisweilen möglich ist, z. B. aus Lufthefe, welche als Streukultur auf Würzeagarplatten ausgesät ist, beide Symbionten zusammen abzuheben und weiter zu kultivieren. Es muß hier besonders betont werden, daß dieses Verfahren nur gelingt bei der Verwendung von Agarboden, und auf Gelatineplatten kein Resultat geben kann, weil darauf die Erscheinung viel weniger deutlich ist. Die Kräuselung solcher Kolonieen beruht in erster Linie auf einer ungewöhnlichen Länge, welche die Hefezellen erreichen und welche Veranlassung gibt zum Unregelmäßigwerden der Oberfläche infolge der schwierigeren Verschiebung länglicher wie runder Körper, welche einander seitlich drücken. Zwar kräuseln die Kolonieen der Preßhefe sich bekanntlich immer, wenn sie alt werden, hier gibt es jedoch eine Kräuselung der symbiotischen Kolonieen zu einer Zeit, wenn die reinen, auf Würzeagar wachsenden Hefekolonieen noch ganz glatt und feuchtglänzend sind. Handelt es sich um eine starke Agglutination verursachende Lactococcus-Varietät, so kann die Erscheinung sehr auffallend werden, und darum ein schönes Beispiel abgeben für makroskopische und mikroskopische Formveränderung eines Lebewesens durch Zusammenwachsen mit einem anderen. Zu gleicher Zeit liegt darin ein gutes Merkmal, um stark agglutinierende Formen unsererer Bakterie zu erhalten, obschon bemerkt werden muß, daß die Kräuselungserscheinung auch bei vielen Hefekolonieen, welche ganz rein sind, so ausgeprägt hervortreten kann, daß dadurch eine vollkommene Nachahmung der mit Agglutinans infizierten Kolonieen entsteht.

Die Erklärung der Kräuselung infolge der Symbiose dürfte vielleicht darin bestehen, daß L. agglutinans die Wand der Hefezellen einigermaßen angreift, teilweise in Schleim überführt und so zu einem Dünnerwerden derselben Veranlassung gibt. Bei gleichem Turgordruck werden solche Zellen leichter wachsen, und wenn ihre Enden mehr nachgeben, wird ihre Mitte sich dabei verlängern. Wie diese Erweichung jedoch geschieht, ist noch nicht aufgeklärt, vielleicht durch ein unbekanntes, durch L. agglutinans erzeugtes Enzym; sicher ist, daß Säurebildung dafür nicht ausreicht, denn einerseits läßt sich durch künstliche Zufügung von Säure nichts Besonderes erreichen und andererseits gibt es Milchsäurefermente, welche noch mehr Säure wie L. agglutinans erzeugen, und dennoch bei der Symbiose mit Preßhefe die Koloniestruktur nicht abändern.

Da L. agglutinans viele Hefezellen zum langsamen Absterben bringt, verflüssigen Hefekolonieen und Striche, welche mit L. agglutinans infiziert sind, die Würzegelatine, worauf sie wachsen, sehr viel früher wie die nicht infizierten. Dieses ist also ganz in Uebereinstimmung mit der früher von mir angegebenen Tatsache, daß die Proteolyse durch Alkoholhefe ein nekrobiotischer Vorgang ist.

Alle untersuchten Alkoholhefen werden durch unsere Bakterie mehr oder weniger vollkommen agglutiniert, so außer der Preßhefe die Oberhefe der Brauereien, die Weinhefen, Saccharomyces fragrans, S. apiculatus, S. Ludwigi, Schizosaccharomyces Pombe.

3. Agglutinierende Lactobacillen.

Es wurde schon gesagt, daß es auch Arten von Lactobacillus gibt, welche Hefeagglutination hervorrufen können. Man kann dieselben auf verschiedene Weise erhalten, besonders dadurch, daß man Preßhefe in einem warmen Zimmer verderben läßt, wobei bekanntlich einige Lactobacillen als aktive Verderbnismikroben auftreten. Um diese zu isolieren, bringt man die verdorbene Hefe bei Luftabschluß in eine gänzlich mit Würze angefüllte Stöpselflasche, welche man dann in den Thermostaten stellt. Kultiviert man bei 37° oder höher, so entwickeln sich neben Lactobacillus fermentum und L. Delbrücki noch andere Arten, wovon eine bei der Aussaat der Rohkultur aus der Flasche auf Würzeagar zwischen den vielen Kolonieen letztgenannter Art leicht aufzufinden ist durch die eigentümliche, dichte, nicht schleimige Konsistenz der Kolonieen, welche in ihrer Mitte etwas vertieft, am Rande nach oben gebogen sind. Diese bestehen aus kurzen rechten Stäbchen, und bei der Kultur in Würze zusammen mit Preß-, Bier- oder Weinhefe geben sie zu starker Agglutination Veranlassung. Man kann die Art auch ziemlich viel in gärenden Preßhefenmaischen finden, und wegen der eigentümlichen Konsistenz der Kolonieen nannte ich dieselbe Lactobacillus densus.

Infiziert man eine mit Würze gänzlich angefüllte Stöpselflasche wie vorgehend mit verdorbener Preßhefe und kultiviert bei 33°, anstatt bei 37°, so erhält man neben wenig Lactococcus agglutinans, welcher bei dieser hohen Temperatur zu degenerieren anfängt, zwar ebenfalls ein Gemisch von verschiedenen Lactobacillen, aber in dieser ersten Rohkultur ist L. fermentum nicht mehr Hauptform; Reinkulturen auf Würzeagarplatten zeigen, daß dabei, neben L. densus, oft eine höchst eigentümliche Art, welche ich schon früher als Lactobacillus conglomeratus beschrieben habe, die Hauptrolle spielen kann, wenn sie auch nicht immer gegenwärtig ist[1]). Diese Art ist leicht kenntlich durch den eigentümlichen

säuerlich-widerlichen Geruch ihrer Kulturen in Würze und an der höchst eigentümlichen Form, welche die Stäbchen, bei hohen Temperaturen und starker Lüftung kultiviert, annehmen. Kolonieen auf Würzeagar bei 40 ° C bestehen nämlich aus Klumpen so wunderlich in- und aneinandergestellter Stäbchen, Kokken und Fäden, daß man kaum meint, eine Bakterienkultur vor sich zu sehen, was eben zur Aufstellung des Artnamens veranlaßte. Bei niederen Temperaturen zeigen die Kulturen in Würze die Form gewöhnlicher Stäbchen und Fäden, wie die anderen Lactobacillenarten, mit denen sie auch durch die beträchtlich intensive Milchsäurebildung übereinstimmt.

Für den gegenwärtigen Zweck ist diese Art von besonderem Interesse, weil das Agglutinationsvermögen derselben bezüglich aller untersuchten Hefearten sehr stark ausgebildet ist, und ihre Reinkulturen in Würze an und für sich ebenfalls eine kräftige Agglutination anzeigen, durch welche letztere Eigenschaft sie unter den mir bekannten Lactobacillenarten einzig dasteht. Weil sie überdies, in Würze, in geschlossener Flasche kultiviert, zu einer ziemlich kräftigen Kohlensäureentwickelung Veranlassung gibt, gehört dieselbe zu den gut charakterisierten Formen.

Obgleich ein Stamm dieser Art schon mehrere Jahre in Reinkulturen auf Würzeagar fortgeimpft wurde, hat derselbe das Agglutinationsvermögen unverändert beibehalten, abweichend also von den so variabelen Laktokokken. Doch geht das Vermögen der Kohlensäurebildung schließlich verloren.

Keine andere Art ist so sehr wie diese zu empfehlen für Vorlesungsversuche über Hefeagglutination. Solche, wie überhaupt alle auf Agglutination bezüglichen Versuche werden am einfachsten mit gewöhnlichen, mit Wattepfropfen geschlossenen und zu einem Drittel oder Viertel mit Würze von 10 ° B. gefüllten Reagenzröhren vorgenommen, worin die reinkultivierten Hefen samt den agglutinierenden Fermenten geimpft und bei 30 ° C kultiviert werden; nach 2 oder höchstens 3 Tagen ist die Agglutination am deutlichsten.

Kocht man Würzekulturen reiner agglutinierender Bakterien, so ergibt sich, daß nachträglich darin ausgesäte Hefe vorzüglich wächst, jedoch nicht agglutiniert.

4. Kolonieenzüchtung in flüssigen Nährmedien.

Wenn man in große Glasdosen mit vollständig ebenem Boden [2]), welche auf einer schwarzen, ebenen Tischplatte genau horizontal aufgestellt sind, eine dünne Schicht einer geeigneten Nährflüssigkeit bringt, worin die zu kultivierenden Keime in sehr großer Verdünnung suspendiert sind, so läßt sich leicht einsehen, daß, wenn vollständige Ruhe

---

1) Ein niemals fehlendes Anhäufungsverfahren für diese Art, welche in verfaulter Hefe so allgemein ist, kann ich noch nicht geben, doch glaube ich, daß jemand, der sich mit den verschiedenen Versuchen, welche auf Lactobacillen führen, genügend vertraut gemacht hat, wohl die richtige Spur finden wird, um diese und einige andere typische Formen der sauren Fäulnis in „natürlicher Reinzucht" zu erhalten. Es ist zu bedauern, daß Henneberg in seiner mühevollen Arbeit über Milchsäurefermente (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1903. No. 22) sich mit der so aussichtsvollen Frage der Anhäufung nur so wenig beschäftigt hat.

2) Dieselben werden dem hiesigen Laboratorium geliefert durch Herrn Instrumentenhändler Giltay in Delft. Hat man keine Dosen mit ebenem Boden, so kann man diese dadurch herstellen, daß man auf den unebenen Boden der gewöhnlichen Glasschalen eine dünne Schicht einer konzentrierten Lösung von Agar in Wasser ausgießt, welche man erstarren läßt. Dieselben sind jedoch nicht für alle Zwecke brauchbar, z. B. können sie nicht verwendet werden für Algenkulturen. Dafür muß man den Agar durch Kieselsäure ersetzen.

herrscht, die Keime sich, je nachdem sie zu beweglichen oder unbeweglichen Arten gehören, zu Schwärmen oder Kolonieen ausbilden, welche kürzer oder länger frei nebeneinander liegen und dann leicht in reinem Zustande übergeimpft werden können. Das Verfahren wurde zunächst verwendet für die Reinkultur von Spirillen, wobei man bezüglich des Gelatineverfahrens auf Schwierigkeiten stößt, und ist besonders geeignet für das Auffinden der flockenbildenden Hefen, sowie für die Untersuchung von Hefen im allgemeinen.

Bei den beweglichen Bakterien kann es vorteilhaft sein, der Kulturflüssigkeit zum Zwecke der Verdickung eine geringe Menge, z. B. $^{1}/_{10}$ Proz., Gelatine oder Irländisches Moos beizugeben, damit keine Konvektionsströme stattfinden können, doch ist das bei richtiger Ausführung des Versuches nicht notwendig, welche Bemerkung natürlich auch für die Hefekultur gilt. An dieser Stelle soll nur über letztere gesprochen werden, und ich nehme als Beispiel die Untersuchung von Preßhefe.

Die dazu verwendete Nährflüssigkeit ist wieder Würze, welche also entweder wohl oder nicht mit einer Spur Gelatine versetzt, und worin das zu untersuchende Material genügend verdünnt suspendiert ist. Die Keime sinken bald zu Boden oder bleiben suspendiert und entwickeln sich zu Kolonieen, welche allerdings auf dem Boden zu kleinen, scharf begrenzten, zirkelrunden Feldern auseinander fallen infolge ihrer Schwere. Auch die Milchsäurefermente, welche immer unbeweglich sind, verhalten sich ähnlich. Nur gewisse Essigbakterien können sich von der Stelle fortbewegen, und sind eben daran kenntlich; aber auch die meisten Essigbakterien sind nicht beweglich, und bekanntlich sind dieselben in Preßhefen ziemlich selten. Die Aërobakterarten (wie Coli und Aërogenes) sind in Preßhefe zwar immer gegenwärtig, aber so vereinzelt, daß man dieselben bei der hier in Betracht kommenden Verdünnung nicht bemerkt, und nur durch geeignete Anhäufungsverfahren nachweisen kann.

Wenn es sich nun um den Nachweis der agglutinierten Kolonieen handelt, so wird wie folgt verfahren: Zunächst sei bemerkt, daß dieselben, wenn auch nicht gerade selten, doch durchaus nicht allgemein sind; deshalb muß die Verdünnung nicht zu weit getrieben werden und z. B. ein paar Tausend Kolonieen auf 2 dm^2 Bodenfläche zur Untersuchung kommen. Diese Untersuchung ist eine sehr einfache und besteht darin, daß man mit der größten Vorsicht die Kulturflüssigkeit von den am Boden liegenden Kolonieen abgießt. Tut man dieses unvorsichtig, so sieht man natürlich gar nichts; geschieht es jedoch ruhig und langsam, so fließen alle gewöhnlichen Formen mit der Flüssigkeit ab, während alles, was agglutiniert ist, entweder an der Stelle bleibt, oder beim Abfließen als zusammenhängende Flocken sofort kennbar ist, mit dem Platinfaden aufgehoben und durch Uebertragen in Uhrgläser mit reiner Würze oder mit Wasser von den anhängenden Mikroben befreit werden kann. Die auf dem Glasboden zurückgebliebenen agglutinierten Kolonieen können ebenfalls durch vorsichtiges Abspülen leicht genügend gereinigt werden, um beim nun folgenden Abstreichen auf Würzegelatine Striche zu erzeugen, entweder der Autoagglutinatoren S. curvatus, S. muciparus und der Flockvarietät der Preßhefe selbst, oder der durch Lactococcus agglutinans, und viel seltener durch Lactobacillus densus und Lactobacillus conglomeratus symbiotisch agglutinierenden gewöhnlichen Art.

Weil die Flockenbildung auch in industriellen Betrieben stattfindet, kann man aus gewöhnlicher, im Laden gekaufter Preßhefe auf folgende einfache Weise symbiotisch agglutinierende Kolonieen erhalten: Man

schüttelt die Hefe mit Wasser auf, läßt absetzen und gießt das Wasser mit der oberen Hefeschicht ab; der Bodensatz wird aufs Neue aufgeschüttelt und absetzen gelassen, es wird aufs Neue abgegossen und diese Manipulation wird einige Male wiederholt. Schließlich gießt man den Rückstand in eine Glasdose, welche auf einem schwarzen Tische steht. Man bemerkt dann mit einer schwachen Lupe sehr leicht, daß zwischen den losen Hefezellen schleimige Flocken umhertreiben, welche mit dem Faden aufgehoben, abgewaschen und auf Würzeagarplatten abgestrichen werden. So bekommt man leicht Einzelkolonieen von agglutinierenden Lactobacillen und Lactokokken und auch, wenn auch viel seltener, Kolonieen von S. curvatus und von autoagglutinierender Preßhefe selbst.

5. Nachweis von Unterhefe und Oberhefe nebeneinander.

Es ist klar, daß man durch das im vorigen Abschnitt beschriebene Verfahren Ober- und Unterhefe nebeneinander quantitativ bestimmen kann. Die Agglutination der Unterhefe ist aber eine so vollständige, daß man in diesem Falle auch noch auf folgende Weise auskommen kann: Anstatt flüssiger Nährmedien macht man auf die gewöhnliche Weise eine Streukultur des zu untersuchenden Gemisches auf der Oberfläche einer Würzeagarplatte, wozu die Hefe in Wasser aufgeschüttelt und dann, nach richtiger Verdünnung, auf die Agarplatte gegossen und wieder abgegossen wird, wodurch eine genügende Zellenzahl am Agar festgeklebt zurückbleibt. Durch vorsichtiges Erwärmen läßt man die Platte abtrocknen und kultiviert bei 30° C. Wenn die Kolonieen entwickelt sind, werden sie gezählt. Dann wird vorsichtig mit Wasser übergossen, welches die Oberhefekolonieen auflöst und die agglutinierenden Unterhefekolonieen zurückläßt, wodurch letztere allein bestimmt werden können und wobei man nach einiger Uebung sehr gute Resultate erhält.

Da es erwünscht ist, solche Versuche auf anderem Wege kontrollieren zu können, mag hier noch ein anderes Verfahren erwähnt werden, um den gleichen Zweck zu erreichen, nämlich vermittelst der auxanographischen Methode, welche in diesem Falle wie folgt angewendet wird:

Man suspendiere in Fleischbouillon- oder in Hefewassergelatine, welche, um nicht allzu fest zu werden, nur 7 Proz. Gelatine enthält, das Hefematerial, und zwar in solcher Verdünnung, daß die sich entwickelnden Kolonieen gezählt werden können. Man gieße sie in eine Glasdose und lege nun nach dem Erstarren an der einen Seite der Dose auf die Oberfläche der Gelatine ein wenig Melibiose und, soweit möglich davon entfernt an der anderen Seite etwas Glukose. Der in einem Zirkelfelde sich durch Diffusion verbreitende Zucker erzeugt nun in der bekannten Weise Auxanogramme. Im Melibioseauxanogramm finden sich aber nur Unterhefekolonieen, während im Glukoseauxanogramm Ober- und Unterhefe beide zur Entwickelung kommen, welche nun leicht abgezählt werden können.

Bei einem solchen Versuche verwendet man keine 10-proz. Gelatine, weil die Härte des Bodens das Hefewachstum behindert, besonders von der Oberhefe.

Nach dem Abzählen der Kolonieen überzeuge man sich, ob in den Zwischenräumen zwischen denselben nicht gewachsene Hefezellen vorkommen, was natürlich einige mikroskopische Uebung voraussetzt.

In mit Unterhefe versetzter Preßhefe kann man durch die Melibiosemethode auch ziemlich genau die Unterhefe quantitativ bestimmen, weil weder die Preßhefe selbst, noch S. curvatus, S. fragrans, S. muciparus und S. mycoderma mit Melibiose wachsen, sich also in dieser Beziehung wie Oberhefe betragen.

Zur Kenntnis der Veränderungen
in der Bakterienflora der frischen Milch während des sogenannten Inkubationsstadiums.

Von **Arthur Wolff**, Kiel.

(Fortsetzung.)

Weigmann (1) spricht die Vermutung aus, daß der verflüssigende Micrococcus von v. Freudenreich der gleiche Organismus wie der Krügersche sei, und daß weiter eine der von Fokker (1) beschriebenen Milchsäurebakterien ebenfalls mit dem eben genannten Micrococcus übereinstimme. Ein Staphylococcus 31, den Gerda Troili-Pettersson (1) aus schwedischem Güterkäse isolierte, „zeigt gewisse Aehnlichkeit mit Micrococcus lactis (Krüger)". Der Micrococcus acidi lactis Kr. ist auch in frischer Butter gefunden worden [Orla Jensen (1)]. Niemals wird aber von den genannten Autoren eine fadenziehende Eigenschaft, wie sie bei unserem Organismus, allerdings nur im Rahm und in der Oberflächenhaut der Molkengelatinestichkultur, beobachtet wurde, erwähnt. In dieser seiner Eigentümlichkeit und auch in einigen anderen Punkten erinnert er an den in Milch aus Stall II gefundenen Micrococcus Freudenreichii, der sich aber bereits durch die Größe seiner Zellen und Kolonieen, durch die Neigung zur Kettchenbildung und sein bei 20° liegendes Wachstumsoptimum deutlich von dem eben beschriebenen Organismus unterschied.

III. Gruppe: Gelbe, nicht verflüssigende Kokken.

Vertreter: Coccus No. 34. Abgeimpft von einer Molkengelatineplatte, die beim III. Versuche um 11 Uhr angelegt worden war.

Mikroskopisches Bild: 1—1,2 μ große Kokken, meist einzeln, aber auch zu zweien und mehreren beisammen.

Molkengelatineplatten: Am 3. Tage kreisrunde, glänzend gelbe Tröpfchen, 1 mm groß. In der Tiefe desgleichen. Bei schwacher Vergrößerung grobkörnig.

Agarplatten: Sehr ähnlich wie eben beschrieben, die Oberflächenkolonieen aber zuweilen von der Kreisform etwas abweichend, die Tiefenkolonieen oval bis wetzsteinförmig; auch war die Konsistenz der Kolonieen nicht butterartig weich, sondern fester als auf Gelatine.

Molkengelatinestich: Nach 2 Tagen glattes fadenförmiges Wachstum, in der Tiefe etwas schwächer, später aber fast ausgeglichen. Erst nach 8 Tagen kleine, rotgelbe, schwach gelappte Ausbreitung.

Agarstrich: Bei 30° C am 2. Tage üppiger, leuchtend gelber Belag, erhaben, schwach gelappt, später differenziert sich um den Rand herum ein gerilltes Band. Feste klebrige Konsistenz.

Milchzuckeragarstich: Anfangs in der Spitze etwas schwächeres, später vollständig ausgeglichenes Wachstum im Stichkanal, der kleine flügelartige, nach zwei entgegengesetzten Richtungen gehende Fortsätze aufweist. Sehr kleine gelbe Auflagerung.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Wie das Bild im Stich schon zeigte, fakultativ anaërobes Wachstum, mit Bevorzugung der Aerobiose.

Bouillon: Nach 48 Stunden reichliche Bakterienansammlung

an der Glaswandung in Gestalt weißlicher Flocken. Später kräftiger Bodensatz.

Kartoffel: Am 2. Tage ziemlich ausgedehnter, aber nur ganz dünner, matter, rotgelber Belag, der sich nach dem feuchten Ende der Kartoffel hinzieht; dort ist er üppiger und mattglänzend, am ausgetrockneten Ende der Kartoffel, weiß und bröcklig hart.

Milch gegenüber verhielt er sich indifferent.

Wahrscheinlich ist dieser Organismus mit dem von Guillebeau beschriebenen und später von Lux in frischer Kuh- und Ziegenmilch ziemlich häufig angetroffenen Galactococcus versicolor identisch.

IV. Gruppe: Gelbe verflüssigende Kokken.

Vertreter: Coccus No. 6. Von einer um 8 Uhr morgens gegossenen Agarplatte des III. Versuches abgeimpft.

Mikroskopischer Befund: 1 μ große Kokken, einzeln, zu zweien und in Häufchen.

Molkengelatineplatten: Nach 48 Stunden nur sehr spärliches Wachstum. Am 4. Tage 1 mm große, runde, gelbe Kolonieen, die in einer flachen, kreisrunden, ganzrandigen Verflüssigungsschale liegen; diese ist anfangs klar, später von leichten Bakterienflocken besetzt. Bei 100-facher Vergrößerung gelbgrün erscheinende Tröpfchen, in der Mitte homogen, am zerfetzten Rande grobkörnig. Tiefliegende kreisrund, ganzrandig und homogen, nur an der Peripherie gekörnt.

Agarplatten: Am 5. Tage 2 mm große, rotgelb glänzende Kolonieen von kreisrunder Form. Tiefenkolonieen kleiner, wetzsteinförmig oder oval. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop feinkörnig, am Rande heller.

Molkengelatinestich: Der sonst gleichförmige, durchscheinend weißliche Stichkanal ist mit Bakterienknöllchen besetzt, die bei der schnell vonstatten gehenden schlauchförmigen Verflüssigung auf den Grund fallen. (Oben bleibt lange Zeit, wie bei vielen verflüssigenden Kokken, bis zum 8. Tage eine luftblasenartige Erweiterung sichtbar.) Ein bei 30° gehaltener Stich wurde bei Abkühlung am 2. Tage noch fest, am 3. Tage war der Nährboden zitternd, vom 4. Tage ab blieb er dauernd flüssig.

Agarstrich: Kräftiger, rotgelb glänzender Belag, $^1/_2$ cm breit, gleichmäßig und ganzrandig. Wie auf Agarplatten, so auch hier fadenziehend. Bei 37° etwas kräftiger als bei 30°.

Milchzuckeragarstich: Den Kanal entlang nach allen Seiten kurze, flügelartige Fortsätze, in der Spitze etwas schwächeres Wachstum, oben dicke, glänzende, rotgelbe Auflagerung von runder Gestalt, die mit der Zeit einen Durchmesser von 6—7 mm erreicht und alsdann konzentrische Ringe aufweist. Trübung des Nährbodens durch Säureproduktion.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Anfangs nur bis zu $^1/_4$ der Schicht hinab Wachstum, später ist der ganze Nährboden durch Kolonieen und Säurebildung getrübt.

Bouillon: Getrübt, rötlich-weißes Sediment, das fadenförmig aufwirbelt.

Kartoffel: Feine, fingernagelgroße, gleichmäßig starke Auflagerung, orangenfarben, später bräunlich, am 10. Tage braun.

Milch: Bei 30° nach 3 Tagen brockig geronnen, bei 20° erst nach 12 Tagen sichtbare Veränderung, bei 37° schon nach 30 Stunden weiches,

gallertiges Koagulum; unter der Rahmdecke eine schmale, gelblichweiße Serumzone, die sich allmählich vergrößert und auch seitlich tiefer geht, am 10. Tage nimmt sie ungefähr die Hälfte des gesamten Volumens ein. Das Serum ist gelblich und klar, Geruch ranzig, Geschmack bittersäuerlich. Beim Umschütteln verteilt sich das Koagulum leicht im Gegensatz zu dem Befund bei Coccus No. 27, das Ganze bietet alsdann nahezu das Aussehen noch unveränderter Milch. Säuregehalt (am 10. Tage) 11,7 °.

Um festzustellen, ob Säureproduktion die Ursache der Gerinnung sei, oder ob es sich hierbei um die Wirkung einer Labausscheidung handle, wurde einmal sofort nach dem Dickwerden der Milch, dann wieder nach 10 Tagen, je eine Säurebestimmung gemacht; sie ergab nach 35 Stunden 3,1°, nach 10 Tagen 11,5° Säure, ein andermal 3,0° nach 30 Stunden und 12,1° nach 10 Tagen. Demnach dürfte auch dieser Organismus, da die geringe Säuremenge von 3° die Gerinnung kaum veranlaßt haben kann, ein sogenannter säurelab-bildender Coccus sein.

Wie ein Vergleich ergibt, steht er dem Micrococcus varians lactis Conn („Klassifikation" No. 113, 104) sehr nahe; die geringfügigen Abweichungen im kulturellen Verhalten liegen innerhalb der Variabilitätsgrenze, so daß man die Organismen als identisch erklären kann. Auch unser Coccus zeigte die Eigentümlichkeit, seine Farbe zu wechseln, was allerdings erst bei späterer Weiterzüchtung zum Ausdruck kam. Barthels Micrococcus E erinnert ebenfalls auffallend an Micrococcus varians (Conn); Gerda Troili-Petersson (1) beschreibt einen aus schwedischem Güterkäse isolierten „Staphylococcus 32" der ein sehr ähnliches Verhalten wie Conns Micrococcus zeigt, und sagt selbst, daß beide Organismen möglicherweise identisch seien, daß ferner ihr Coccus große Uebereinstimmung mit den von v. Freudenreich und Thöni beschriebenen gelben Kokken von Typus I aufweise. In seinen neueren Untersuchungen über die in frischer Milch auftretenden Bakterienarten in Kuh- und Ziegenmilch fand Lux (1) sehr häufig, in ca. $^4/_5$ aller untersuchten Fälle, den Staphylococcus mastitis albus (Guillebeau), wiederholt (zu 0,3 resp. 1 Proz. der Fälle) auch den Staphylococcus mastitis aureus (G.). Er sagt, nach Beschreibung sei wohl anzunehmen, daß der von Conn als in der Milch häufig vorkommende Micrococcus varians mit den von ihm gefundenen beiden Staphylokokken recht gut in Einklang gebracht werden könne. Andererseits sei der Staphylococcus mastitis albus wohl identisch mit den Varietäten a, b und c des Typus II, und dem Vertreter des Typus III der von v. Freudenreich und Thöni beschriebenen Kokken, denn es wurden sowohl Kolonieen gefunden, die, nachdem sie auf Gelatineplatten tellerförmig eingesunken waren, sich bald krümelig auflösten, bald aber auch im Zusammenhang blieben. Von den gelben verflüssigenden Kokken, Typus I, dürften die Varietäten a und b mit dem Staph. mastitis aureus übereinstimmen.

Aus diesen Betrachtungen erhellt, daß der eben beschriebene ein weit verbreiteter Typus ist, denn wenn auch die aus der Litteratur angeführten Vertreter nicht identisch sind, so werden sie doch immerhin zu dem gleichen Verwandtschaftskreis gehören.

Burr (1) fand im Euter zweier frisch geschlachteter Kühe jenen Coccus, den Conn in seiner „Klassifikation" unter No. 60 beschreibt; es ist dies aber nicht, wie Burr versehentlich angibt, der Micro-

coccus varians lactis (dieser ist unter No. 113 aufgeführt), sondern der Micrococcus acidi lactici Marpmann.

Zum Schlusse sei erwähnt, daß nach Erfahrungen, die an ca. 20 Stämmen gemacht wurden, das Gelatineverflüssigungsvermögen und die Eigenschaft, Milch peptonisieren resp. auflösen zu können, in engster Beziehung zu stehen scheinen.

b) Bewegliche Kokken.

Abgesehen von spärlichen älteren Angaben, sind bewegliche Kokken bisher nur sehr selten beobachtet worden. Im Jahre 1887 glückte es Mendoza (1), Madrid, bei Untersuchung von Mageninhalt den ersten beweglichen Coccus zu entdecken, dem er den Namen Micrococcus tetragenus mobilis ventriculi beilegte. Fast gleichzeitig fand Ali-Cohen (1) Holland in Trinkwasser seinen Micrococcus agilis, der ebenfalls unzweifelhaft Eigenbewegung zeigte. Ferner gelang es Löffler (1), der an letztgenanntem Mikroorganismus langgestreckte, äußerst feine Geißeln nachwies, einen mit Geißeln und Eigenbewegung ausgerüsteten Micrococcus zu sehen, der jedoch diese Eigenschaft bald verlor. Bei mikroskopischer Untersuchung von Ascitesflüssigkeit beobachtete Maurea (1) eine deutlich bewegliche Sarcine, die er als Sarcina mobilis beschreibt. Eine zweite eigenbewegliche mit langen Geißeln versehene Sarcinenart isolierte Sames (1) aus der Jauche einer Dünggrube.

Zwar hat Ellis (1) nachgewiesen, daß nach wiederholter Uebertragung der Arten auf Spirillenagar (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XIX. p. 394 und XXXIII. p. 162) bei allen Vertretern der Coccaceen durch geeignete Färbungsmethoden mehr oder weniger deutlich Geißeln sichtbar gemacht werden können, so daß es nicht ausgeschlossen erscheint, daß die Kokken insgesamt Bewegungsorgane besitzen und damit auch zu echter Eigenbewegung befähigt sind; doch sind immerhin jene äußerst seltenen Fälle interessant, in denen bei gewöhnlichen Verhältnissen unter den abertausend beobachteten unbeweglichen Kokken eigenbewegliche Formen gesehen wurden.

Lehmann und Neumann (1) (p. 48, 138 und 204) konnten bei Micrococcus agilis (Ali Cohen) in zwei verschiedenen aus guter Quelle bezogenen Kulturen auf allen üblichen Nährböden in sehr häufigen, auch nach Erscheinen der Ellisschen Arbeit wiederholten Versuchsreihen niemals Eigenbewegung oder Geißeln konstatieren und haben die Ueberzeugung gewonnen, daß die gleiche Art mit und ohne Geißeln auftreten kann. Sie sind der Meinung, daß es aber nach den Ellisschen Resultaten nicht ausgeschlossen sei, auch aus ihrem Stamme nochmals bewegliche Kokken mit langen Geißeln zu erhalten. Auch bei Sarcina mobilis Maurea konnten sie niemals Eigenbewegung sehen oder Geißeln färben.

Mit keiner der genannten Arten sind zwei von mir in Milch gefundene, unverkennbar eigenbewegliche Species identisch, in deren Beschreibung ich daher im Folgenden näher eintreten will; ich bezeichne die Organismen mit Sarcina mobilis A und B.

1. Sarcina mobilis A.

Vorliegender Organismus wurde auf einer Molkengelatineplatte des XII. Versuches entdeckt.

A. Mikroskopischer Befund:

Molkengelatineplattenkolonieen zeigten am dritten Tage 0,8—1 μ große, kreisrunde Zellen mit ortsverändernder Bewegung, meistens einzeln, seltener zu zweien, alsdann in charakteristischer Doppelform; so auch auf Agarplatten. Im Molkengelatinestich waren die gleichen Formen, in frisch angelegten Kulturen auch Pakete zu beobachten, stets beweglich; nach 14 Tagen waren allerdings bereits viele involviert und großenteils unbeweglich, doch wurden vereinzelt bewegliche Formen selbst im 4 Monate alten Stich noch gesehen. Auf Agarstrich nach 24 Stunden Paketformen, die sich langsam wälzend fortbewegten, Einzelindividuen 1,2 μ groß, im Kondenswasser noch größer, bis zu 1,5 μ, nur schwach, oft gar nicht beweglich, was vielleicht den Schluß zuläßt, daß in einem gewissen Vermehrungsstadium die Cilien abgeworfen werden. Nach 14 Tagen verschieden große Mikrokokken- und auch Sarcinenformen, nach 3 Wochen in der Größe wieder fast ausgeglichen, in stark zitternder Bewegung, nur hin und wieder eine rotierende und zugleich den Ort wechselnde Zelle. In Bouillon große Formen, bis 2 μ, meist in Paketen schwerfällig sich wälzend, oder unbeweglich. In Milch waren nach 4 Wochen, nachdem eine sichtbare Veränderung (Peptonisierung) eingetreten war, beim Mikroskopieren sehr deutlich bewegliche Kokken sichtbar, die selbst nach $2^1/_2$ Monaten diese Eigenschaft noch nicht gänzlich verloren hatten.

Geißelfärbepräparate nach der Methode van Ermengen ließen erkennen, daß die Begeißelung in beiden Fällen eine peritriche, die Geißeln selbst lang und geschlängelt waren. (Bei Anfertigung solcher Präparate muß auf die Reinigung der Deckgläschen peinlichste Sauberkeit verwendet werden, es empfiehlt sich, sie in einer Lösung von Kaliumbichromat abzukochen.) Mitunter kann Schleimbildung, wie Ellis (1) sie beobachtete, ein gutes Gelingen der Präparate hindern.

B. Kulturelles Verhalten.

Alle Kulturen wurden bei 20° C gehalten, da bei 30° und höheren Temperaturen kein Wachstum eintrat.

Molkengelatineplatten: Am dritten Tage $^1/_2$ mm große, hellgelbe Kolonieen. Bei 100-facher Vergrößerung scharf begrenzte Scheiben mit körnigem Inhalt, von denen sich einige feinkörnig aufzulösen beginnen. Oberflächen- und Tiefenkolonieen von gleicher Gestalt, letztere nur wenig kleiner. Am 5. Tage 3 mm große kreisrunde Kolonieen in 5 mm großer, ebenfalls kreisrunder, flacher, ganzrandiger Verflüssigungsschale, die am 7. Tage graulich getrübt erscheint und nun eine Größe von 1 cm im Durchmesser erreicht hat; darin sieht man die etwas zusammengeschrumpfte Kolonie. Die Tiefenkolonieen sind $^1/_2$ mm groß, scharf begrenzt; die Gelatine hat sich über ihnen etwas eingesenkt.

Agarplatten: Rundliche, glänzend hellgelbe Kolonieen, die im Maximum 1 mm groß werden, Tiefenkolonieen wetzsteinförmig oder annähernd dreieckig. Bei 100-facher Vergrößerung am Rande körnig.

Molkengelatinestich: Nach 24 Stunden schwaches Wachstum, Stichkanal glatt, in der Tiefe etwas schwächer. Vom 2. Tage ab kleine flache, grauliche Auflagerung, die sich am 3. Tage einzusenken beginnt. Am 8. Tage ein grau getrübter Verflüssigungsbecher, beginnende cylinderförmige Verflüssigung, weißlicher Bodensatz, der nach 3 Wochen deutlich gelbliche Farbe annimmt. Nach 4 Wochen ist die Hälfte des Nährbodens aufgelöst, die Verflüssigungszone noch getrübt, später wird sie

bei stärkerer Sedimentbildung klar. Der Stich in gewöhnlicher Gelatine bietet ein gleiches Bild.

Agarstrich: Bei 20° C nach 24 Stunden schwacher grauer Belag, der allmählich eine ausgesprochen gelbe Farbe annimmt, ca. $^1/_4$ cm breit, flach, glänzend, ohne Differenzierung.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Auch in der Tiefe Kolonieen vorhanden, an der Oberfläche jedoch besseres Wachstum.

Milchzuckeragarstich: Nach 24 Stunden Stichkanal in eine feine Spitze auslaufend; sehr kleine durchscheinende Auflagerung von unregelmäßiger, rundlicher Gestalt, die allmählich größer wird und nach 2 Monaten die Glaswandung erreicht; gelblich, saftig glänzend.

Bouillon: Nach 24 Stunden schon Wachstum, später getrübt und kräftiger Bodensatz. In Traubenzuckerbouillon kein oder nur ganz geringes Wachstum.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Milch bleibt 1 Monat lang ohne sichtbare Veränderung, erst nach ca. 5 Wochen erfolgt eine ganz unauffällige Auflösung, ohne vorausgegangene Koagulation. Nach 7 Wochen sieht man unter der Rahmdecke blaßrot gefärbtes, trübes Serum, am Grunde einen kleinen Rest unaufgelösten Kaseins. Späterhin hellt sich das Serum auf, ist nach $2^1/_2$ Monaten klar und von gelber Farbe. Nach 14 Tagen wurde 0,6° Säure gefunden, der Geschmack war deutlich bitter, ein besonderer Geruch konnte nicht bemerkt werden.

Beim Weiterzüchten wurde das Pigmentbildungsvermögen dieses Coccus deutlicher. Das Verflüssigungsvermögen gewöhnlicher Gelatine gegenüber läßt allmählich nach. Der Originalstich war vollständig verflüssigt, weitere je nach 4 Wochen angelegte Stiche, nebeneinander gestellt, zeigten in Abstufungen, wie mit fortschreitender Zeit der Verflüssigungscylinder immer kürzer wurde, bis daß beim letzten Stich nach 4 Wochen kaum noch cylinderförmige Verflüssigung zu bemerken war. Bei Verwenden von Molkengelatine waren Schwankungen in dieser Eigenschaft zu beobachten, zuletzt angelegte Stiche wurden nach 4 Wochen bis zur Hälfte aufgelöst.

2. Sarcina mobilis B.

In Milch, die aus Stall II stammte, wurden auf einer um 7 Uhr morgens angelegten Agarplatte zwei kleine Kolonieen einer zweiten beweglichen Kokkenart bezw. eine Sarcine, ausgezeichnet durch besonders starke Verschleimung und Verkittung der gebildeten Pakete, gefunden.

A. Mikroskopisches Bild.

Auf Molkengelatine am 5. Tage 1—1,5 μ große kugelrunde, selten, im Vorstadium der Teilung, ovale Organismen, die äußerst lebhaft flottierend sich oft über das ganze Gesichtsfeld hin bewegen. Die in der Ueberzahl vorhandenen Einzelindividuen scheinen dabei noch zu rotieren, auch Diplokokken und Tetraden, ja selbst ganze Haufen sind in lebhafter Bewegung. Derart war auch der Befund auf Agarplatten, die 3 Tage bei 30° im Thermostaten gestanden hatten. In einem gewissen Stadium bieten die Organismen ein ganz anderes Aussehen; alsdann sieht man unter dem Mikroskop unbewegliche, fast homogene Stücke von annähernd quadratischer, an den Ecken abgerundeter Form, die eine Größe bis zu 5 μ erreichen, meistens in kleineren oder größeren Haufen; das Material ist alsdann so hart, daß es sich nur schwer ab-

impfen läßt. Einige dieser Brocken lassen eine grobe Schraffierung erkennen und beim Weiterverfolgen kann man beobachten, wie sich die Stücke zu Einzelindividuen auflösen, die dann wieder lebhafte Eigenbewegung zeigen.

B. Kulturelles Verhalten.

Molkengelatineplatten: Erst am 3. Tage ganz feine Pünktchen, am 5. gelbe Tröpfchen, im Maximum 1 mm groß. Unter dem Mikroskop dunkel, am Rande deutlich gekörnt.

Das Kolonieenbild auf ein und derselben Platte ist nicht ein einheitliches, man kann vielmehr 2 Typen unterscheiden, einmal stark glänzende, hohe Kolonieen von schleimiger Konsistenz, welche die schnell beweglichen Formen enthalten, andererseits matte, flache von lederharter Konsistenz, so daß beim Abimpfen stets die ganze Kolonie mitgenommen wird. In letzteren sind jene verkleisterten Pakete zu finden.

Agarplatten: Am 3. Tage punktförmige, am 5. Tage größere, rötlichgelb angehauchte, flache Kolonieen, die später nicht größer als 2 mm werden. Bei 100-facher Vergrößerung braun, gekörnt.

Molkengelatinestich: Das Wachstum setzt sich aus flockigen Knöllchen zusammen, die differenziert bleiben und aneinandergereiht oder in Abständen bis in die Spitze des Stichkanals auftreten, keine oder nur geringe Auflagerung. Nach einem Monat, niemals aber vor dieser Zeit, ist etwas wie eine Erweichung des Nährbodens zu bemerken. In der in gewöhnlicher Gelatine angelegten Stichkultur trat diese Erscheinung nicht auf, im übrigen verhielt sie sich genau so wie die Molkengelatinekultur.

Milchzuckeragarstich: Anfangs schwaches, perlschnurartiges Wachstum, im oberen Teile des Stichkanals etwas kräftiger, am 4. Tage vollkommen ausgeglichen. Die kleine, trockene Auflagerung, welche kaum über den Nährboden herausragt, wird allmählich höher, nimmt zunächst eine wachsartige, dann eine schleimige Beschaffenheit an, nach 14 Tagen ist sie $^1/_2$ cm groß, hellgelb glänzend und tropfenförmig hoch. Der aus Knöllchen zusammengesetzte Stichkanal zeigt gleichmäßig starkes Wachstum bis in die Spitze.

Agarstrich: Nach 24 Stunden nur sehr schwaches Wachstum, nach 28 Stunden treten, über die ganze Oberfläche des Nährbodens verteilt, gelbliche, im Alter und später bei fortgesetzter Weiterzüchtung ausgesprochen gelbe Kolonieen auf. Auch hier kann man wieder weiche und harte Kolonieen beobachten, die letzteren werden weich, neu entstehende sind hart. Bei 30 und 37° C ist kein Unterschied in der Wachstumsintensität zu verzeichnen, bei 20° ist der Belag merklich schwächer.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Durch die ganze Nährbodenschicht gleichmäßig verteilte Kolonieen von unregelmäßigem, flockigem Bau, am 3. Tage $^1/_2$ mm, nach 14 Tagen 1 mm groß.

Bouillon: Nach 24 Stunden bereits Wachstum, später kräftige Flockenbildung, besonders an der Glaswandung, in Traubenzuckerbouillon nur äußerst spärlich.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Milch: Bei 30° oder 37° aufgestellt, zeigt nach 14 Tagen ein weiches, zusammenhängendes Koagulum ohne Serumbildung; eine Auflösung erfolgt nicht. Es ist ein unangenehmer Geruch, scheinbar durch

Fettspaltungsprodukte bedingt, wahrzunehmen. Das Koagulum ist nach 4 Wochen gummiartig geworden und liegt, faltig zusammengeschrumpft, in schwach getrübtem, wässerigem Serum, auf dem große, hellgelbe Fettaugen schwimmen.

3. Die Milchsäurebakterien und die Streptokokken.

Schon in den ersten Versuchen wurden verschiedentlich Organismen bemerkt, die einen durchaus streptokokkenähnlichen Habitus zeigten, bei weiterem Verfolgen jedoch, besonders auf Molkengelatine, alsbald deutlich die Gestalt von Bacterium Güntheri (Bact. lactis acidi) zu erkennen gaben. Später wurden oft Formen gefunden, von denen man, auch nach Uebertragung auf Molkengelatine, nicht sagen konnte, ob sie den Streptokokken oder dem Typus Güntheri einzureihen wären. Neben diesen Formen wurden dann auch typische, auf allen Nährböden formbeständige Streptokokken gefunden, die physiologisch und auch kulturell Bact. Güntheri sehr nahestanden.

In Milch aus Stall I, die bei 5° C im Eisschrank aufbewahrt wurde, waren ebendiese Formen zu finden, darunter auch ein Vertreter, der zudem durch sein Verhalten zum Sauerstoff der Luft, wie es in der Schüttelkultur zum Ausdruck kommt, interessant ist, und daher im folgenden beschrieben werden soll.

A. Mikroskopisches Bild.

Einzelindividuen 1 μ lang, Kettenbildung bis zu 20 und mehr Gliedern, wobei der Anschein erweckt wird, als ob je zwei derselben zusammengehören; anscheinend kurze, dicke Stäbchen lassen bei genauerem Zusehen in der Mitte eine Einschnürung erkennen. Zuweilen, in älteren Kulturen öfters, ist eine Teilungsebene in der Längsrichtung der Kette angedeutet. Nicht selten sieht man auch kugelrunde Einzelformen, sogar Diplokokken und Tetraden. In Tiefenkolonieen werden vollkommenere Ketten ausgebildet als an der Oberfläche, in Bouillon schöne Perlschnüre.

B. Kulturelles Verhalten.

Molkengelatineplatten: Am 3. Tage $^1/_2$ mm große, kreisrunde, ausgesprochen weiße, undurchscheinende Kolonieen, in Oberfläche und Tiefe gleich; bei 100-facher Vergrößerung dunkle, scharf begrenzte Scheibchen.

Agarplatten: Ebenfalls nur punktförmige Kolonieen von gelblich-grauer Farbe, die unter der Lupe als glänzende Tröpfchen erscheinen und bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachtet von der Kreis- bis zur Dreieckform abweichen; der Rand ist scharf begrenzt, der Inhalt körnig. Tiefliegende sind meist wetzsteinförmig.

Molkengelatinestich (und gewöhnliche Gelatine): Nach 24 Stunden schwaches, fadenförmiges Wachstum ohne Auflagerung; der Stichkanal bleibt durchscheinend und spitzt sich am Ende kaum merklich zu.

Agarstrich: Bei 30° C bis zum 10. Tage äußerst schwaches Wachstum, Belag grau und durchsichtig, bei 37° kann er ganz fehlen.

Milchzuckeragarstich. Gleichmäßig starkes Wachstum bis

in die Spitze des knötchentragenden Stichkanals; nach einiger Zeit tritt deutliche Trübung des Nährbodens auf.

Bouillon: Nach 24 Stunden stark trübe; weißer Bodensatz, der in ganz kurzen Fäden wolkig aufwirbelt. Es erfolgt allmähliches Aufhellen und Klarwerden durch Absatz am Boden.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Milch: Nach 60 Stunden bei 30° im unteren Teile des Gläschens fest, im oberen dickflüssig, bei 37° nach weiteren 3—5 Stunden ein gleiches Bild; nach 72 Stunden in beiden Gläschen Güntheri-ähnliche Gerinnung. Späterhin wird eine kleine Menge wasserhellen Serums ausgepreßt. Kein irgendwie auffallender Geruch, Säuregrad zur Zeit der Gerinnung bei 30° C 6,4, bei 37° 5,6, nach 10 Tagen bei 30° 8,1, bei 70° 5,5.

Von 3 anderen Stämmen dieser Art brachte einer am 4., die anderen beiden am 5. Tage bei 30° aufgestellte Milch vom Boden des Gläschens aus zur Gerinnung.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Der 5 cm lange Nährbodencylinder ist in der oberen Partie, 1$^1/_2$ cm tief, mit punktförmigen Kolonieen dicht besetzt, dann folgt nach unten zu eine $^1/_2$ cm breite Zone ohne jegliches Wachstum, die anfangs vollkommen klar, später ausschließlich durch die starke Säureproduktion des Organismus getrübt erscheint, jedoch dauernd scharf markiert bleibt; unterhalb bis zum Boden des Gläschens ist wieder starkes Wachstum sichtbar. Das Auftreten dieser wachstumfreien Zone dürfte in der Annahme seine Deutung finden, daß der Organismus, der sowohl aërob wie anaërob gedeihen kann, im oberen Teile unter Vermittelung des Sauerstoffes der Luft, im unteren auf Kosten des im Milchzucker vorhandenen Sauerstoffes wächst. [Vergl. R. Burri (2), p. 804.]

Ein anderer, dem eben beschriebenen jedoch sehr nahestehender Streptococcus, der als Repräsentant für alle gefundenen Organismen dieser Art angesehen werden kann (überhaupt verhalten sich ja alle Streptokokken morphologisch und kulturell ziemlich gleich) wurde oft in den aus Stall II entnommenen Milchproben angetroffen. Auch dieser Streptococcus zeigt die bereits beschriebenen Formen, er bildet oft 8 μ lange Kettchen, deren Glieder mitunter zusammengedrückt sind, so daß sie breiter als lang erscheinen. Sein kulturelles Verhalten ist folgendes:

Gelatine- und Molkengelatineplatten: Am 3. Tage rundliche bis kreisrunde, im Maximum 1 mm große, weiße Kolonieen, die später eine Größe von 1,5 mm erreichen. Bei 100-facher Vergrößerung erscheinen sie bräunlich, grob gekörnt, am Rande heller; auf Agar-Platten sind sie im allgemeinen etwas größer.

Im Molkengelatinestich wie auch in gewöhnlicher Gelatine tritt sehr kräftiges, knötchentragendes oder geperltes Wachstum im gesammten Stichkanal auf, eine Auflagerung wird nicht gebildet. Auch der Milchzuckeragarstich bietet ein gleiches Bild, hier tritt oft nach 24 Stunden schon Trübung des Nährbodens durch Säurebildung ein.

Agarstrich: Bei 30° nach 24 Stunden und fernerhin 2—3 mm breiter, weißer, schwach durchscheinender Belag, am Rande körnig, bei 37° deutlich schwächer.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Nach 24 Stunden Wachstum durch die ganze Schicht, sehr kräftige Trübung.

Bouillon: Nach 12 Stunden bereits Trübung, wie auch in Traubenzuckerbouillon; nach 24 Stunden weißer Bodensatz, der sich beim Schütteln verteilt; in Traubenzuckerbouillon kräftigeres Wachstum.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Milch: Nach 60 Stunden bei 30 und 37° ein Koagulum von weicherer Konsistenz wie bei Güntheri-Gerinnung, die Koagulation erfolgt auch hier vom Boden aus. Am 10. Tage wird etwa $^1/_5$ des Nährbodenvolumens von klarem weißen Serum eingenommen, der Säuregrad beträgt 5,5 resp. 6,3 bei 37°, ein auffallender Geruch oder Geschmack ist nicht zu konstatieren.

Die Streptokokken- wie die Güntheri-Kolonieen machten sich auf den Plattenkulturen durch ihre geringe Größe kenntlich; erst nach einigen Tagen wurden sie dem unbewaffneten Auge deutlich sichtbar. Beide Arten ließen sich dadurch auseinanderhalten, daß auf Gelatineplatten die Streptokokkenkolonieen vollkommen undurchsichtig weiß, scharf begrenzt, bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop, wie auch auf Agarplatten, bräunlich und sehr deutlich grob gekörnt erschienen, während die Güntherikolonieen mehr oder weniger durchscheinend und in unregelmäßigem, nicht so scharf begrenztem Umriß gewachsen waren, zudem bei 10-facher Vergrößerung nur undeutliche Körnung zeigten; auch waren die erstgenannten, besonders auf den Agarplatten, gewöhnlich etwas größer ($1^1/_2$—$1^3/_4$ mm). Zwar wurde die Beobachtung gemacht, daß auf Gelatineplatten auch undurchsichtig weiße, scharf umschriebene Kolonieen Güntheri-Keime enthielten, solche erschienen dann aber unter dem Mikroskop zum Unterschied von den Streptokokken-Kolonieen homogen dunkel. Auf den Agarplatten differenzierten sich die beiden Kolonieenarten schlechter und es gelang nur bei gegen das Licht gehaltener Platte, die alsdann bläulich durchscheinenden Güntherikolonieen von den deutlich schwächer, bräunlich durchscheinenden Streptokokkenkolonieen auseinanderzuhalten. Selbstverständlich konnten solch äußerliche Merkmale nur Anhaltspunkte bieten, die eine mikroskopische Untersuchung erleichterten, denn ein geringer Unterschied in der Zusammensetzung und Beschaffenheit des gleichen Nährbodens, desgleichen andere bisher noch wenig studierte Umstände können von Einfluß auf das entstehende Kolonieenbild sein.

In der hohen Schicht erzeugten die Güntherikolonieen Trübung durch Säureproduktion, entweder des ganzen Nährbodens, oder die einzelnen Kolonieen waren von einem deutlichen Säurehof umgeben, sofern sie nur vereinzelt vertreten waren. Die zu Anfang jeden Versuches angelegten Kulturen zeigten oft keine Trübung, weil zu dieser Zeit der betreffende Organismus nur spärlich und in Gemeinschaft mit anderen Species auftrat, mit fortschreitender Zeit jedoch wurden letztere zurückgedrängt und Bact. Güntheri vermehrte sich dermaßen, daß oft schon beim nächstfolgenden Untersuchungszeitpunkt der Milchprobe die angelegten Schichten vollständig undurchsichtig waren. Die Streptokokkenkolonieen bildeten in der hohen Schicht rein weiße, ziemlich dicke Scheibchen von unregelmäßiger Gestalt, die nach 5 Tagen einen Durchmesser von 1 mm hatten; bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop waren sie homogen hellgelb, am Rande bröckelig und grobkörnig; ein Säurehof wurde nicht oder nur ganz schwach ausgebildet. Die Güntherikolonieen waren dunkler und am Rande infolge ihres

kräftigen Säurehofes verschwommen. (Die Kokkenkolonieen waren noch dunkler, olivfarben und am Rande auffallend körnig.)

Nach Form, Größe und Bau der Kolonie, ferner dem mikroskopischen Bilde im hängenden Tröpfchen zufolge, könnten verschiedene Güntheri-„Rassen" unterschieden werden: Zunächst sei auf das zuvor erwähnte Auftreten durchscheinender und undurchscheinender Kolonieen hingewiesen, dann wurden auch Güntheri-Kolonieen gefunden, deren Unregelmäßigkeiten am Rande bis zur vollkommenen Sternform ausgewachsen waren und die dadurch einen Durchmesser von 2 mm erreichten; in der Mitte lag bei diesen Formen, noch deutlich begrenzt, die kleinere ursprüngliche Kolonie. Die Ursache einer derartigen Koloniebildung ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Keime infolge Anwendung des Verstäubungsapparates im Wassertröpfchen exquisit oberflächlich auf die Platte gefallen waren, während sie bei gewöhnlichen Kulturverfahren nur selten ganz an die Oberfläche zu liegen kommen und alsdann bereits immer von Nährmedium umgeben sind; andererseits wurden aber solche vielstrahlige Sternchen auf Gelatineplatten schon von Leichmann (1), als „ungewöhnliche Erscheinung", beobachtet. Des weiteren differenzierten sich in der von Güntheri stark besetzten hohen Schicht einige größere Kolonieen (2—3 mm im Durchmesser) dicke Scheibchen mit unregelmäßigem Rand, die streptokokkenähnliche Formen in langen Ketten bargen und nur hin und wieder Kurzstäbchen verrieten; nach Uebertragung auf Molkengelatine nahmen sie deutliche Spitzstäbchenform an. Die in den Sternchenkolonieen gefundenen Güntheri wiesen eine etwas schlankere Form auf.

Diese „Rassen" wurden gleichzeitig und in Doppelproben auf Milch geimpft, ließen aber, obgleich ihre extremsten Formen gewählt worden waren, nicht den geringsten Unterschied in ihrem Verhalten erkennen; nach 14 Stunden (bei 30° C) trat typische Güntheri-Gerinnung ein, d. h. die Milch wurde vollständig, ohne auffallende Nebenerscheinungen, festgelegt; der Säuregrad betrug 12,0—12,5°. Anscheinend eigenbewegliche Formen, die gelegentlich beobachtet wurden, zeigten, in einen Formalintropfen gebracht, nur Brownsche Molekularbewegung. Verweisen möchte ich an dieser Stelle auf die unter erschöpfender Litteraturzusammenstellung von Weigmann gegebene Zusammenfassung der verschiedenen Milchsäurebakterienarten vom Typus Güntheri zu der Kollektivart Streptococcus lacticus Kruse in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, 9. Lief., 1905, p. 68—87.

Nach diesen morphologischen Betrachtungen wollen wir nunmehr auf das Verhalten dieser Organismen bei unseren Milchuntersuchungen eingehen. Die eigentlichen Milchsäurebakterien, d. h. also jene vom Typus Güntheri, nehmen mit der Zeit stets eine dominierende Stellung in der Bakterienflora der Milch ein, oft derart, daß andere Bakterienarten neben ihnen kaum noch zu finden sind; interessant ist es nun, ihr Auftreten in den einzelnen Zeitintervallen unter dem Einfluß der verschieden gewählten Aufbewahrungstemperaturen zu verfolgen, was wieder am besten an Hand einiger Tabellen geschehen kann.

Wie Burri, Conn und Esten, v. Freudenreich, Goethart, Gorini, Moore, Ward u. A. solches, zumeist für aseptisch gewonnene Milch, nachgewiesen haben, so sind auch in der hier zur Untersuchung gelangten Milch gleich nach der Gewinnung Milchsäurebakterien in relativ geringer Zahl anzutreffen, wenigstens in allen aus Stall I ent-

nommenen Proben; die Milch des Stalles II war reicher an Güntheri-Keimen, wohl deshalb, weil sie beim Passieren des Kühlers stets einer Infektion unterlag. Soweit in den nachstehenden Tabellen (p. 662—664) die Güntheri von den Streptokokkenkeimen auseinandergehalten sind, ist dieses durch die Bezeichnungen G und Str geschehen.

Ein Blick in die I. Tabelle lehrt, daß die Milchsäurebakterien bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° mit außerordentlicher Schnelligkeit die Oberhand gewinnen. In den ersten 3 Stunden freilich ist, sofern die Milch nicht ausgesprochen reich an diesen Organismen war, die Vermehrung nicht wesentlich, in der Zeit von 11—2 Uhr dagegen hat sich ihre Zahl prozentualiter bereits verdoppelt, während sich die Gesamtkeimzahl zudem verdreifacht hat. In den letzten 3 Stunden, d. h. also bis 5 Uhr, wuchs ihre Zahl noch um Bedeutendes, wie Versuch III, für den Güntheri-reiche Milch verwendet worden war, zeigt, sogar bis zu 93 Proz. der noch gestiegenen Keimzahl. In der Hohen-Schicht-Kultur sind sie natürlich reichlicher vertreten, doch bleibt im allgemeinen das Verhältnis der auf Platten und andererseits der in Hoher Schicht gefundenen Zahlen bis zum Schlusse des Versuches konstant ein ziemlich gleiches und kann für jeden Einzelfall bestimmt werden. Ihr Verhalten, insofern sie gleich zu Anfang des Versuches einmal stark, ein andermal schwach vertreten waren, läßt sich ebenfalls leicht aus den Tabellen bei Betrachtung der Prozent- und der Gesamtkeimzahlen herauslesen.

Bei Betrachtung der in Tabelle II niedergelegten, mit Zuhilfenahme des Verstäubungsapparates bei verschiedenen Temperaturen ausgeführten Versuche sehen wir im XII. Versuche, beim Aufbewahren der

I. Verhalten der Milchsäurebakterien (Bact. Güntheri + Streptokokken) in Milchproben aus Stall I bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° C.

Vers.	Kultur	8 Uhr	11 Uhr	2 Uhr	5 Uhr
		%	%	%	%
I.	Gel.	15 (40 000)	15 (41 000)	40 (195 000)	80 { (9 330 000)
	Ag.	10 (60 000)	15 (85 000)	40 (109 000)	(7 182 000)
	H. Sch.	80 (45 000)	80 (50 000)	—	—
II.	Gel.	10 (220 000)	20 (250 000)	70 (5 800 000)	77 { (15 800 000)
	Ag.	15 (268 000)	25 (234 000)	50 (3 000 000)	(12 200 000)
	H, Sch.	80 (24 000)	90 (47 000)	1 : 10 000—21 Kol. ausschl. Günth.	1 : 10 000—705 Kol. ausschl. Günth.
III.	Gel.	50 (570 000)	80 (1 600 000)	80 (9 000 000)	96,8 (88 000 000)
	Ag.	55 (450 000)	75 (2 200 000)	75 (22 000 000)	98 (72 000 000)
	H. Sch.	Andere Arten als Bact. Güntheri wurden nicht gefunden.			
IV.	Gel.	4 (167 000)	5 (177 000)	14 (1 600 000)	13,5 (20 000 000)
	Ag.	10 (148 000)	8 (149 000)	10 (1 500 000)	5 (16 000 000)
	H. Sch.	75 (39 000)	75 (32 000)	97 (280 000)	1 : 100 000— 37Kol. ausschl. Günth.
V.	Gel.	5 (198 000)	5 (205 000)	40 (2 600 000)	70 (12 000 000)
	Ag.	1 (125 000)	2 (150 000)	25 (2 030 000)	45 (20 000 000)
	H. Sch.	45 (20 000)	55 (30 000)	96 (430 000)	1 : 100 000—105 Kol. nur G.
VI.	Gel.	10 (397 000)	15 (400 000)	45 (3 600 900)	65 (13 000 000)
	H. Sch.	93 (75 000)	95 (340 000)	1 : 10 000—120 Kol. nur G.	1 : 100 000—70 Kol. nur G.

II. In Milchproben aus Stall I bei verschiedenen Temperaturen.

Versuch	Temp.	Kultur	1. Tag 8 Uhr morgens Proz.	1. Tag 8 Uhr abends Proz.	2. Tag 8 Uhr morgens Proz.	2. Tag 8 Uhr abends Proz.	3. Tag 8 Uhr morgens Proz.	3. Tag 8 Uhr abends Proz.
XII	5—7°	Gel.	5	8	16	10	5	13
		Ag.	3	15	15	9,6	5	13,5
		H. Sch.	48	50	52	50	53	62
			4. Tag 8 Uhr morgens	5. Tag 8 Uhr morgens	7. Tag 8 Uhr morgens	9. Tag 8 Uhr morgens	11. Tag 8 Uhr morgens	14. Tag 8 Uhr morg.
		Gel.	6	—	24	15	20	verfl.
		Ag.	7	9	28	10	20	41
		H. Sch.	50	55	65	70	75	80
XVIII	20—22°		1. Tag 7 Uhr morgens G. / Str.	1 Uhr G. / Str.	7 Uhr abends G. / Str.	2. Tag 7 Uhr mittags G. / Str.	11½ Uhr G. / Str.	
		Gel.	7 / 7 (122 000)	29 / 7,5 (315 000)	28 / 17 (5 700 000)	89 / 1 (567 000 000)	95 / 1,3 (1 260 000 000)	
		Ag.		60 / 9	43 / 7	91 / 0,5	96 / 1,2	
		H. Sch.	76 / 7 (41 000)	90 / 1:100 102 Kol. = 0	1:100 000 19 Kol. nur G. gefunden	1:10 000 000 58 Kol. nur G. gefunden	1:10 000 000 133 Kol. nur G. gefunden	
XIX	30°		6½ Uhr morg. G. / Str.	10½ Uhr G. / Str.	2½ Uhr G. / Str.	6½ Uhr abends G. / Str.		
		Gel.	5 / 7 (42 000)	28 / 40 (252 000)	34 / 50 (480 000)	89 / 8 (118 Mill.)		
		Ag.	15 / 25	26 / 54	35 / 41	80 / 6		
		H. Sch.	30 / 40 (23 000)	37 / 61 (200 000)	85 / 15 (10 200 000)	1:10 000 000 20 Kol. nur G. gefunden		
XX	30°		7 Uhr morgens G. / Str.	10½ Uhr G. / Str.	2½ Uhr G. / Str.	6½ Uhr abends G. / Str.		
		Gel.	[1] / [1] (78 000)	[1] / [1] (84 000)	[1] / [1] (1 500 000)	55 / 12 (58 Mill.)		
		Ag.	12 / 15	21 / 19	38 / 17	58 / 18		
		H. Sch.	42 / 27 (16 000)	63 / 28 (76 000)	92 / 4 (2 700 000)	60 / 1:1 000 000—75 Kol. = 0		

[1]) zu schwach besetzt, als daß Prozentzahlen angegeben werden könnten

G = Güntheri. Str. = Streptokokken.

III. In Milchproben aus Stall II bei verschiedenen Temperaturen.

Vers.	Temp.	Kultur	1. Tag 8 Uhr morgens G.	Str.	2. Tag 8 Uhr morgens G.	Str.	3. Tag 8 Uhr morgens G.	Str.	5. Tag 8 Uhr morgens G.	Str.	7. Tag 8 Uhr morgens G.	Str.	
XIII	5—7°	Gel.	> 1	20	> 1	22	1	33	verfl.		verfl.		[1]) 0 von 28 Kolonieen
		Ag.	> 1	24 (6000)	10	27 (6000)	> 1	25 (4000)	> 1	> 1 [1]) (28 000)	15	3 (41 000)	
		H. Sch.	Zahlenangabe nicht möglich.										
XIV	20—22°		1. Tag 8 Uhr morg. G.	Str.	2 Uhr G.	Str.	8 Uhr abends G.	Str.	2. Tag 8 Uhr morg. G.	Str.			
		Gel.	51	9	85,5	1	65	> 1	95	+	+ 0 von 1550 Kol.		
		Ag.	61	5 (800 000)	89	1 (5 040 000)	68	> 1 (18 Mill.)	88	+ (348 Mill.)	+ 0 „ 2000 „		
		H. Sch.	in den sehr stark besetzten Kulturen keine Str. gefunden										
XV	20°		1. Tag 8 Uhr morg. G.	Str.	1 Uhr G.	Str.	7 Uhr abends G.	Str.	2. Tag 8 Uhr morg. G.	Str.	1 Uhr G.	Str.	
		Gel.	13	30	8	52	9	29	25	35	50	41,5	
		Ag.	10	30 (270 000)	7	43 (1 020 000)	15	58 (22 050 000)	30	30 (189 Mill.)	70	21 (610 Mill.)	
		H. Sch.	24	6 (250 000)	29	8 (760 000)	35	20 (10 300 000)	55	30 (135 000 000)	75	21 (395 000 000)	
XVI	30°		7 Uhr morgens G.	Str.	11½ Uhr G.	Str.	3½ Uhr G.	Str.	7 Uhr abends G.	Str.			
		Gel.	20	59,3	55	40	80	10,5	82	17			
		Ag.	28	45 (980 000)	57	40,5 (28 970 000)	82	10 (205 Mill.)	94	5,5 (380 Mill.)			
		H. Sch.	—	—	—	—	—	—	—	—			
	37°		6½ Uhr morgens G.	Str.	10½ Uhr G.	Str.	2½ Uhr G.	Str.	6 Uhr abends G.	Str.			
		Gel.	4	3	13	9	23	10	55	2			
		Ag.	10	7 (204 000)	22,5	8,2 (2 275 000)	18	11 (28 Mill.)	60	6 (200 Mill.)			
		H. Sch.	30	15 (50 000)	50	20 (1 440 000)	30	15 (31 000 000)	20	10 (132 000 000)			

Milch im Eisschrank bei 5—7° C, ein langsames Ansteigen der Milchsäurebakterienzahl inkl. der Streptokokken (die hier durchgehends prozentisch noch nicht von Güntheri auseinandergehalten werden konnten); doch erreicht ihre Prozentzahl nicht die Größe wie bei höheren Temperaturen, weil andere Bakterienarten bis zum Schlusse des Versuches sich mitentwickelten resp. neu auftraten. Zu Anfang waren eventuell weniger, sicherlich aber nicht mehr Streptokokken- als Güntheri-Keime vorhanden, am Schlusse des Versuches jedoch, d. h. am 14. Tage der Aufbewahrung, traten auf den Agarplatten von 41 Kolonieen 4 Güntheri und 13 Streptokokken, in der Hohen-Schicht-Kultur am 11. Tage 25 Proz. Güntheri und 50 Proz. Streptokokken, demnach doppelt soviel Streptokokken als Güntheri auf. Es ist also die Zunahme der Keimzahl mehr einer Vermehrung der Streptokokken als jener der Güntheri zuzuschreiben, wohl aus dem Grunde, weil das Wachstumsoptimum der erstern der angewendeten Aufbewahrungstemperatur näher lag. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 20° im Versuch XVIII findet man zu Anfang Güntheri und Streptokokken in gleicher Anzahl, um 11 Uhr schon bedeutend mehr Güntheri-Keime und am Schlusse des Versuches ca. 95 Proz. Güntheri gegenüber 1 Proz. Streptokokken. In der Hohen-Schicht sind die letzteren um 1 Uhr unter 102 Kolonieen in der Verd. 1:1000 nicht mehr anzutreffen. Auch bei den Temperaturen von 30 und 37° (Versuch XIX und XX) wurden die Streptokokken von Güntheri überflügelt, bei 37° schneller als bei 30°, wobei aber die Beobachtung zu machen war, daß am Schlusse des Versuches bei 30° prozentisch mehr Güntheri-Keime vorhanden waren als bei 37°, was auf den Umstand zurückzuführen sein dürfte, daß Bact. Güntheri bei 30° im allgemeinen besser als bei 37° wächst.

Laut Tabelle III konnte zunächst bei Versuch XIII, d. h. bei einer Aufbewahrungstemperatur von 5—7° C, konstatiert werden, daß die Streptokokken sich anfangs schneller vermehrten als Güntheri, am Schlusse jedoch mehr Güntheri als Streptokokken vorhanden waren. In dem ersten bei 20° ausgeführten Versuche (XIV), bei dem die verarbeitete Milch schon zu Anfang reich an Güntheri war, verschwanden die nur spärlich vertretenen Streptokokken nach kurzer Zeit; er wurde dann, schon der praktisch wichtigen Aufbewahrungstemperatur wegen, wiederholt (XV), und es ließ sich, da infolge der geringen Zahl der Güntheri auch die Streptokokken wieder mehr in den Vordergrund traten, sehr schön verfolgen, wie jene die letztgenannten mit fortschreitender Zeit allmählich unterdrückten. Es ist hier am Schlusse des Versuches eine relativ hohe Streptokokkenzahl zu verzeichnen, wohl aus dem Grunde, weil sie bereits zu Anfang zahlreich vertreten waren und sich daher behaupten konnten. Auch bei 30 und 37° (Versuche XVI und XVII) unterdrückten wieder die Güntheri die physiologisch schwächeren Streptokokken, bei 30°, dem Wachstumsoptimum der ersteren, scheinbar mit größerer Leichtigkeit.

Was die in Tabelle III, Versuch XVI, nicht aufgezeichneten Hohen-Schicht-Kulturen anbetrifft, so mußte infolge der großen Menge der Kolonieen und der totalen Trübung des Nährbodens eine zahlenmäßige Angabe der Species unterbleiben, doch konnte konstatiert werden, daß zum weitaus größten Teile Güntheri-Keime vorhanden waren, um 7 Uhr morgens unter 104 Kolonieen in Verdünnung 1:10000 nur einige wenige Streptokokken, im übrigen

nur Bact. Güntheri. Um 11 Uhr waren in Verdünnung 1:10000 schon 2568 Kolonieen vertreten (in diesem Falle wurde die Keimzahl in der Weise festgestellt, daß die Kolonieen eines in dünne Scheibchen zerlegten, 1 cm langen Stückes des Nährbodencylinders, der zufällig genau 6 cm lang war, gezählt und mit 6 multipliziert wurden), in Verd. 1:1000000 der um 3½ Uhr angelegten Kulturen 275 Kolonieen; hier gelang es nach einigem Bemühen (beim Halten der in dünne Scheibchen zerlegten Hohen-Schicht in der Petri-Schale gegen das Lampenlicht), 2 Streptokokkenkolonieen herauszufinden; um 7 Uhr abends waren in Verdünnung 1:10000000 36 Kolonieen, ausschließlich Bact. Güntheri. Wie der folgende Abschnitt zeigen wird, kann diese wichtige Bakteriengruppe auch beim Pasteurisierverfahren eine wesentliche Rolle spielen.

4. Die Bedeutung des Alters der Milch für den Pasteurisationserfolg.

Es widerspricht der bisherigen Annahme, daß Bact. Güntheri in Milch ein Pasteurisieren zu überdauern im stande ist. Um so überraschender war es, daß bei den ersten Versuchen, in denen neben der Verarbeitung der rohen Milch zu den bekannten vier Zeitpunkten gleichzeitig auch pasteurisiertes Material der gleichen Herkunft auf seinen Bakteriengehalt geprüft wurde, in den Hohen-Schichten, die von dieser, bei 70 oder 75° C ½ Stunde lang erhitzten Milch angelegt wurden, genannter Organismus verschiedentlich auftrat; diese Erscheinung gab Veranlassung zu mehreren, einer näheren Orientierung dienenden Pasteurisierversuchen. Untersuchungen über die Hitzewiderstandsfähigkeit von Bact. Güntheri in Milch sind, soweit ich dies verfolgen konnte, in der Literatur nicht bekannt gegeben. Backhaus (1) begnügt sich mit der kurzen Angabe, daß das Einwirken einer Temperatur von 65° 10 Minuten lang das Bact. Güntheri vollkommen abtötet, und Schweitzer (1) sagt über einen von ihm gefundenen, der Gruppe Bact. lactis acidi angehörenden Organismus: eine 15 Minuten dauernde Erhitzung auf 65° ist diejenige Temperatur, bei welcher der Organismus in zuckerhaltiger Bouillon abstirbt.

Es war meinerseits die Beobachtung gemacht worden, daß stets in den um 2 Uhr angelegten Kulturen und zahlreicher noch bei jenen, die um 5 Uhr mit der pasteurisierten Milch beschickt wurden, Organismen erwähnter Art sich zeigten. Anscheinend mußten sie sich in der Milch erst eingenistet haben, auf daß es alsdann einigen Individuen gelang, der Abtötung zu entgehen, obgleich andererseits die Annahme näher lag, daß gerade die frisch in die Milch gelangten Keime am widerstandsfähigsten seien. Im Weiterverfolg jener Tatsache nun wurde versuchsweise eine Milchprobe aus Stall I, die am Morgen gemolken war, zunächst bis 2 Uhr nachmittags bei Zimmertemperatur aufbewahrt, auch schon aus dem Grunde, weil anfangs, d. h. um 8 und 11 Uhr, wie wir bereits gesehen haben, gewöhnlich nur sehr wenig Keime dieser Bakterienspecies vorhanden sind.

Das Pasteurisieren, in diesem Falle ein Erhitzen der Milch während ½ Stunde auf 70° C, wurde in großen Reagenzgläsern auf dreierlei Weise bewerkstelligt:

1) in einem Schüttelpasteurisierapparate,
2) in der Art, daß die Gläschen, in einem temperierten Wasserbade

aufgestellt, des öfteren mit der Hand, ohne sie aus dem Wasser zu heben, durchgeschüttelt wurden, und

3) auf eben diese Weise unter Fortlassen des Umschüttelns, also bei lediglichem Aufstellen in Wasser von 70° C.

Der Schüttelapparat war so eingerichtet, daß in einem großen Wasserbehälter die mittels Klammern an einer rotierenden Welle befestigten, mit 40—50 ccm Milch gefüllten und mit einem Kautschukpfropf verschlossenen Gläschen dauernd in einem genau bei 70° C gehaltenen Wasserbade bewegt wurden. Je eine breite federnde Stahlspange, die Boden und Pfropf des Gläschens umspannte, verhinderte das Herausspringen des Kautschukstopfens. Zum Antrieb diente eine kleine Wasserturbine.

Vor und nach dem Pasteurisieren wurden Milchzuckeragar-Hohe-Schichten und Molkengelatineplatten einmal also mit roher (1 : 100 — 1 : 10 000 000 ccm), das andere Mal mit pasteurisierter Milch (1 und 1 : 10 ccm) beschickt.

Die von der rohen Milch gegossenen Platten zeigten in

Verdünnung	1 : 1000 = 447	entsprechend	447 000	Keime pro Kubikcentimeter
"	1 : 10 000 = 65	"	650 000	

Verd. 1 : 100 000 wies 10 Kolonieen auf, und zwar 30 Proz. Güntheri. Die entsprechenden Hohen-Schichten verunglückten leider. Auf den Plattenkulturen des erhitzten Materials waren nach dem Pasteurisieren auf die unter 1 angegebene Art 52 Keime pro Kubikcentimeter zu finden, jedoch keine Güntheri-Keime, im zweiten Falle 59 Keime, darunter anscheinend involvierte Güntheri, und zwar in 5 Kolonieen, nach Anwendung der 3. Erhitzungsmethode 60 Keime, davon ca. 30 Proz. Güntheri-ähnliche. Die entsprechenden Hohen-Schichten zeigten im ersten Falle 280, im zweiten 200, im dritten 110 Keime, Kokken und Güntheri-ähnliche Organismen.

Eine Wiederholung dieses Versuches in gleicher Weise ergab bei 300 000 Keimen pro Kubikcentimeter in den von roher Milch angelegten Hohen-Schicht-Kulturen 75 Proz. Güntheri-ähnliche und 25 Proz. Kokken, auf den Plattenkulturen 50 Proz. der ersteren. Die Hohen-Schicht-Kulturen der nach jenen 3 Pasteurisiermethoden erhitzten Milch zeigten übereinstimmend 50 Proz. Güntheri-ähnliche, 40 Proz. Kokken und ca. 10 Proz. andere Organismen, während die absolute Zahl der Kolonieen 150, 200 und 130 betrug. Was die Gelatineplatten anbetrifft, so machten die verflüssigenden Kolonieen der Sporenbildner bei dem langsamen Wachstum der Milchsäurebakterien eine Zahlenangabe zwar unmöglich, doch wurden auf allen Platten Güntheri-ähnliche Formen konstatiert.

Nun ist aber das Bact. Güntheri einer anderen, ebenfalls nicht sporenbildenden Bakterienart, die nicht selten in pasteurisierter Milch anzutreffen ist, äußerlich zum Verwechseln ähnlich, weshalb auch im Vorausgehenden stets von Güntheri-ähnlichen Organismen gesprochen wurde, eben weil jene, wie Abstiche auf Milch später ergeben, zum Teil Güntheri-Keime vorgetäuscht hatten. War in den vorausgehenden Versuchen durch das Auftreten dieser resistenten Kurzstäbchen das Bild von dem Zahlenverhältnis der ursprünglich, d. h. in der rohen Milch, vorhandenen Güntheri-Keime zu dem das Erhitzen überlebenden Teil verwischt, so konnte doch immerhin konstatiert werden, daß nach dem Erhitzen tatsächlich auch Güntheri-Keime in der Milch vorhanden waren und in der Hohen-Schicht-Kultur, die

einem Anreicherungsverfahren diesen Organismen gegenüber gleichkommt, dürften sie nahezu restlos die dort nachgewiesenen 50 Proz. ausgemacht haben.

Tatsächlich war es demnach einem Teile der Güntheri unter jenen Bedingungen möglich gewesen, trotz $^1/_2$-stündiger Hitzeeinwirkung von 70° C, sich in Milch lebensfähig zu halten.

Es fragt sich nun weiter, ob dieser Teil eine Temperatur von 70° absolut, d. h. auch längere Zeit hindurch unbeschädigt ertragen kann. Dieserhalb wurde in einem folgenden Versuche ein Quantum ein und derselben Milchprobe eine halbe, ein zweites Quantum eine ganze Stunde lang nach der unter 1 und 2 angegebenen Methode (in Doppelproben a und b) erhitzt. Die alsdann angelegten Kulturen wurden ca. 2 Wochen lang aufbewahrt. Die Resultate waren folgende:

I. Befund in den Hohen-Schichten.

1. Auf die erste Art $^1/_2$ Stunde lang pasteurisiert:

Probe a 1:10 ccm: 15 punktförmige Kolonieen, die unbestimmte Formen enthielten; 1 ccm: eine ziemlich entsprechende Anzahl gleicher Kolonieen.

Probe b 1:10 ccm: 12 Kolonieen, Formen wie zuvor; 1 ccm: Bac. putrificus, daher nicht maßgebend, da genannter Organismus das Wachstum der anderen Kolonieen, die ohnehin stets erst sehr spät zum Vorschein kamen, zu unterdrücken vermag. Die Schicht war grünlich-bläulich verfärbt und stinkend, das Kondenswasser milchig getrübt.

2. Auf die gleiche Art 1 Stunde lang pasteurisiert:

a) 1:10 ccm: 18 Kolonieen, 11 davon bargen Kurzstäbchen in Ketten, die das Licht stärker als gewöhnlich brachen, eine nähere Untersuchung ergab Bact. Güntheri. Im übrigen wurden wieder die fraglichen Formen gefunden. 1 ccm: ebenfalls Güntheri konstatiert, allerdings in bedeutend geringerer Zahl, als sie der Verdünnung entsprach.

b) In beiden Verdünnungen Bac. putrificus mit seinen Wirkungen.

3. Auf die zweite Art $^1/_2$ Stunde lang pasteurisiert:

a) 1:10 ccm: 12 Kolonieen, und zwar Kokken und jene zweifelhaften Organismen;

b) 1:10 ccm: 9 jener punktförmigen Kolonieen (und 7 Kolonieen von Actinomyces albus).

4. Auf die zweite Art 1 Stunde lang pasteurisiert:

a) 1:10 ccm: 12 Kolonieen zweifelhafter Art;

b) 1:10 ccm: 14 derartige Kolonieen; die Zahlen der in 1 ccm gefundenen Keime waren ziemlich entsprechend.

Nach den Abstichen von den fraglichen Formen auf Milch, Milchzuckeragar und Molkengelatine zu urteilen, konnten es Güntheri sowohl wie auch die erwähnten Resistenten sein. Milch wurde bis zum 10. Tage nicht zur Gerinnung gebracht, was mehr zu gunsten der letzteren sprach.

Auf der Oberfläche der Hohen-Schicht-Kulturen wurde oft eine Decke von Sporenbildnern gefunden, in der Schicht selbst jedoch nur zweimal je eine Kolonie.

II. Befund auf den Molkengelatineplatten.

Die mit 1 ccm geimpften Platten waren in kurzer Zeit durch die Kolonieen der Sporenbildner vollständig verflüssigt, die 1:10 ccm-Platten wurden solange wie möglich unter Augen behalten, aber auch am 10. Tage war auf den noch nicht verflüssigten Stellen in keinem Falle eine Güntheri-Kolonie zu bemerken, dagegen einige der resistenten Kurzstäbchen.

Es zeigt dieser Versuch einen Fall, in dem es einzelnen Güntheri-Keimen gelungen ist, trotz einstündiger Hitzeeinwirkung dem Abtöten zu entgehen. Steht dieser Befund auch vereinzelt da, so kann doch nach weiteren Untersuchungen eine Erklärung hierfür gegeben werden; zudem ist es nicht ausgeschlossen, daß ein anderer Fall, da nicht von allen Kolonieen Abstiche gemacht wurden, der Beobachtung entging, daß ferner bei diesem Versuche nur wenig Güntheri-Keime zur Zeit des Pasteurisierens vorhanden waren.

Schon um letztgenanntem Umstande vorzubeugen, sollten in einem

folgenden Versuche Keime direkt in sterilisierte Milch gebracht und dann der Pasteurisation unterzogen werden. Es wurden zwei Gläschen steriler Milch um 8 Uhr morgens mit Güntheri geimpft und bei 30° bis nachmittags um 2 Uhr aufbewahrt. Zum Impfen wurde Material von einem Stamme entnommen, der gelegentlich eines vorausgegangenen Versuches aus pasteurisierter Milch isoliert worden war. Nach einer halbstündigen Pasteurisation bei 70° C war, wie die angelegten Hohen-Schichten und Gelatineplatten zeigten, kein Keim mehr am Leben. Eine Wiederholung dieses Versuches zeitigte das gleiche Resultat.

Außer in sterilisierter Milch, wurde dann noch ein Resistenzversuch in Bouillon und Wasser gemacht, in der Weise, daß das von einem 2 Tage alten Agarstrich reichlich entnommene Material in der betreffenden Flüssigkeit fein verteilt und alsdann 20 Minuten lang bei 70° pasteurisiert wurde. In den mit einer großen Oese vor dem Pasteurisieren angelegten Hohen-Schichten trat bei der ersten Verdünnung intensives Wachstum, verbunden mit starker Trübung des Nährbodens, ein, in den nächst schwächeren Verdünnungen waren 40, in der Kontrollkultur 30 Güntheri-Kolonieen gewachsen, auf den Plattenkulturen nur wenige. Nach dem Erhitzen konnten keine Keime mehr nachgewiesen werden. — Trotzdem war angesichts der anderweitig so oft gemachten Beobachtungen die Ueberzeugung nicht genommen, daß es unter gewissen Verhältnissen einigen der uns interessierenden Mikroorganismen gelingen kann, trotz ½-stündigem Erhitzen der sie enthaltenden rohen Milch, dem Abtöten zu entgehen.

Die bereits früher erwähnte Beobachtung, wonach sich Bact. Güntheri scheinbar in der Milch erst breit gemacht haben mußte, auf daß es dann einigen Keimen gelang, lebensfähig durchzuschlüpfen, führte auf den Gedanken, für einen folgenden Pasteurisierversuch Milch zu verwenden, die bereits beim Heraustritt aus dem Euter mit derartigen Keimen beladen war. In Stall II standen 2 Kühe, Liese und Walde, die nach früher einmal angestellten Versuchen sehr Güntheri-reiche Milch lieferten. Es wurden also am 2. Februar abends aus dem Gemelk jeder Kuh je 2 Proben in große sterile Reagenzgläser entnommen und noch an demselben Abend 1:100 und 1:1000 ccm davon auf Hoheschichten verarbeitet, und zwar wurde diese das Wachstum der Güntheri-Keime begünstigende Kulturmethode jetzt ausschließlich angewendet; ihr war es überhaupt zu verdanken, daß sich das Auftreten von Bact. Güntheri nach dem Pasteurisieren zu erkennen gab. Die frische Milch von Kuh Liese enthielt in 1:1000 ccm 0, in 1:100 ccm 4 Keime, 2 uns nicht interessierende Kurzstäbchen und 2 Kohken; die von Kuh Walde stammende dagegen in 1:1000 ccm bereits 6 Güntheri-Kolonieen, in 1:100 entsprechend eine zehnfache Anzahl. Die am nächsten Morgen in gleicher Weise ausgeführte Untersuchung bestätigte den Befund, daß die Milch von Kuh Liese sehr wenig der gesuchten Keime enthielt, Walde dagegen eine sehr Güntheri-reiche Milch lieferte; somit wurde auch die interessante Tatsache konstatiert, daß eine Bakterienart lange Zeit hindurch vielleicht bis zum Tode des Tieres im Euter verbleiben kann. Eine Infektion durch den zuvor gereinigten Melkkübel hätte sich gleichfalls in dem Gemelk von Kuh Liese bemerkbar machen müssen, dies war jedoch nicht der Fall, denn untersuchungsgemäß war die Milch dieser Kuh durchaus Güntheri-arm. Was aber das letztgenannte Tier anbetrifft, so stellte sich später heraus, daß ein Wechsel der Tiere unter Beibehaltung des gleichens Namens

stattgehabt hatte und so nicht die als reich an Güntheri-Keimen bekannte Milch jener Kuh Liese, sondern die eines anderen Tieres untersucht worden war.

Die Prüfung der zu gleicher Zeit pasteurisierten Milch ergab in den am Abend von 1 und 1:10 ccm angelegten Kulturen weder bei Liese noch bei Walde Bact. Güntheri, auch in der am Morgen verarbeiteten Milch von Kuh Liese waren keine Keime dieser Species zu finden, in Milch von Kuh Walde wurden in 1 ccm 7, in 1:10 ccm eine punktförmige Kolonie mit zweifelhaften Formen gefunden. Abstiche auf Molkengelatine und auch das mikroskopische Bild, zumal die zu beobachtende Kettchenbildung, sprachen, wenn auch nicht ausschlaggebend, so doch immerhin für Güntheri, jedoch wurde die Milch bis zum 10. Tage nicht koaguliert; demzufolge konnten es jene bereits erwähnten resistenten Kurzstäbchen sein, wenngleich bei diesen eine Anordnung der Einzelindividuen in Kettenform sehr selten und weniger deutlich ist; andererseits war aber auch ein Vorhandensein von Bact. Güntheri nicht ausgeschlossen, denn obgleich das Fehlen einer Säureproduktion in dem Maße, daß dadurch ein Dicklegen der Mich bewirkt wurde, befremdend war, so war doch auch früher schon die Beobachtung gemacht worden, daß die überlebenden Güntheri-Keime durch das Erhitzen offenbar geschwächt waren, was sich an dem langsamen Wachstum und der oft bröckeligen Beschaffenheit der Kolonieen sowohl, als an den oft involvierten und stärker lichtbrechenden Formen der Organismen selbst deutlich zu erkennen gab. Zudem sprach der Befund beim Beobachten der weiter bei 30° C aufbewahrten pasteurisierten Milchproben nicht gegen die Annahme, daß es sich um Güntheri-Keime handle. Die Milchprobe von Kuh Walde war am 4. Tage geronnen und zeigte beim Mikroskopieren im hängenden Tropfen außer Sporenbildnern die an Bact. Güntheri erinnernden Formen; eine Ueberimpfung aus dem festen Koagulum auf sterile Milch ergab nach 24 Stunden bereits Gerinnung, derart, wie sie durch Bact. Güntheri erzeugt wird (ohne nachfolgende Auflösung). Von den beiden entsprechenden Morgenproben (vom 3. Februar) der Kuh Walde wurde die eine am 3. Tage durch Güntheri-ähnliche Organismen zur Gerinnung gebracht, am 4. Tage war auch die zweite, jedoch nur am Boden, geronnen und wurden auch hier Güntheri-ähnliche Zellen konstatiert, während in der oberen Schicht, woselbst die Milch ein wässeriges Aussehen angenommen hatte, sehr lebhaft bewegliche Langstäbchen zu finden waren. Aus dem ersten Gläschen wurden mit einer Oese zwei Uebertragungen auf Milchzuckeragar-Hohe-Schicht gemacht, und es gelang dann in der ersten Verdünnung, unter vielen jener zweifelhaften Formen auch vereinzelt typische Güntheri-Formen zu finden; diese und auch die Güntheri-ähnlichen legten Milch in 40 Stunden dick und zeigten in Milchzuckeragar-Hohe-Schicht Trübung des Nährbodens. Eine Ueberimpfung aus dem Koagulum des zweitens Gläschens brachte Milch ebenfalls, allerdings erst nach 2 Tagen, zur Gerinnung und es konnte alsdann neben jenen offenbar säurefesten Langstäbchen unzweifelhaft Bact. Güntheri konstatiert werden.

Diesem Befunde zufolge waren also tatsächlich Güntheri-Keime in der pasteurisierten Milch vorhanden, jedoch in so geringer Zahl, daß sie bei Entnahme von 1 und 1:10 ccm auf den davon angelegten Kulturen nur vereinzelt zu finden waren; in einem größeren Quantum aber

machen sie sich, zumal ihnen Zeit und günstige Gelegenheit zur Entwickelung gegeben war, leichter bemerkbar, sie erholten sich, erlangten mit der Zeit ihr normales Säurereproduktionsvermögen wieder und waren dann sogar, wie aus obiger Darlegung ersichtlich, wieder imstande, andere Bakterienarten zu unterdrücken; offenbar war ihnen durch das Erhitzen auch das Säurebildungsvermögen vorübergehend genommen resp. diese ihre Funktion geschwächt worden. Die entsprechenden Proben der pasteurisierten Milch von Liese wiesen keine Güntheri auf. In beiden Gläschen der Abendprobe zeigte sich am 4. Tage eine fast bis zur Hälfte des Volumens fortgeschrittene Auflösung, ohne daß jedoch zuvor ein Festwerden bemerkt worden war. Mikroskopisch konnte man viele mehr oder weniger an Bac. mesentericus erinnernde Langstäbchen beobachten, desgleichen auch Plektridien, augenscheinlich, wie dies zudem der Geruch nach faulendem Käse vermuten ließ, Bac. putrificus, der, obgleich streng anaërob, auch bei Luftzutritt gedeihen kann, wofern z. B. durch Bac. mesentericus der Sauerstoff absorbiert wird. Die Morgenproben verhielten sich genau ebenso, doch wurden hier keine Plektridien gefunden.

Eine Güntheri-Infektion von außen her war ausgeschlossen, denn im Arbeitsraume aufgestellte Molkengelatineplatten zeigten, abgesehen von einigen auch nur ganz spärlich gefundenen, allgemein verbreiteten Luftkeimen, niemals Güntheri. Der Einwand, es sei infolge Haut- oder Schaumbildung in der Milch einigen der genannten Organismen möglich gewesen, dem Abtöten zu entgehen, muß gleichfalls zurückgewiesen werden; zwar bildet sich, wie jeder weiß, beim Erwärmen in offenen Gefäßen bereits bei 70° auf der Milch eine ziemlich starke Haut, deren bakterienschützende Wirkung von Th. Smiths (1) und Hesse (1) z. B. für Tuberkelbacillen, von Russel und Hastings (1) für einen noch später zu erwähnenden Coccus nachgewiesen ist, ferner wird auch in geschlossenen Gefäßen, freilich ein viel zarteres Häutchen gebildet, das jedoch ebenfalls, wie Swellengrebel (1) zeigt, stark genug ist, um Bakterien einen hinreichenden Schutz bieten zu können; jegliche Hautbildung aber war bei unseren Untersuchungen durch das Schütteln von vornherein ausgeschlossen; ebenso das Entstehen von Schaum, der, Bakterien im Innern der Bläschen einschließend, ebenfalls eventuell einen Schutz bieten könnte. Weitere Versuchsfehler, wie Uebersehen von Milchtröpfchen, die an der Wand des betreffenden Gläschens haften geblieben waren, oder unrichtige Kontrolle der Temperatur des Wasserbades dadurch, daß das Thermometer etwa auf dem von der Flamme berührten Boden des Gefäßes aufruhte und so einen höheren Wärmegrad anzeigte, fielen außer Betracht. Um aber auch den letzten Zweifel an der Korrektheit der Versuche auszuschließen, wurde in einem folgenden Versuche ein Quantum der Milch, und zwar von Kuh Walde, vor dem Pasteurisieren in dünnwandigen Reagenzgläschen eingeschlmolzen.

Die Milchprobe wurde um 6 Uhr abends während des Melkens aus dem betreffenden Kübel in sterilisierte Gläschen entnommen und bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Morgen aufbewahrt. Alsdann wurden mittels einer großen Oese von der rohen Milch Milchzuckeragar-Hohe-Schichten in Verdünnungen a und b angelegt und andererseits ca. 8 ccm der Milch zum Zweck der Pasteurisierung in ein steriles, ziemlich langes Reagenzgläschen gebracht, dessen Oeffnung über der Flamme zugeschmolzen wurde. Dieses Zuschmelzen bot allerdings nicht erwartete Schwierig-

keiten und gelang erst nach geeigneter Auswahl und vorherigem Zuformen der Gläschen, in die dann die Milch mittels eines Kapillartrichters praktiziert werden mußte. In ein größeres, am Grunde mit einem Wattebäuschchen gepolstertes Gläschen gebracht, wurde das Ganze, nachdem das Hüllgläschen mit einem zwecks sofortigen Zutritts des heißen Wassers doppelt durchlöcherten Kautschukpropfens verschlossen war, $^1/_2$ Stunde lang bei 70° C im bereits beschriebenen Schüttelapparate pasteurisiert. Von dieser Milch wurden in gleicher Weise wie vorher Milchzuckeragar-Hohe-Schichten angelegt.

Die Kulturen der rohen Milch waren stark mit Güntheri besetzt, in denen des pasteurisierten Materials waren in 1:10 ccm 9 Güntheri-Keime zu finden, und zwar winzig kleine bröckelige Kolonieen, in 1 ccm nach 1 Woche ebensolche, die wie jene augenscheinlich involvierte Zellen enthielten. Von vier verschiedenen Abstichen auf Milch zeigte der eine am 4. Tage abends Gerinnung, jedoch war dieser durch Langstäbchen infiziert, die anderen drei gerannen am 5. Tage morgens, in diesem Falle handelte es sich der Form nach um Güntheri oder die Resistenten. Letztere konnten jedoch weiter nicht in Frage kommen, weil sie Milch, wie wir später sehen werden, gewöhnlich überhaupt nicht, niemals aber in so kurzer Zeit zum Gerinnen bringen. Am 10. Tage hatte sich ein festes Koagulum gebildet und war wenig weißes Serum ausgepreßt; es erfolgte keine Auflösung. Nochmalige Ueberimpfungen ergaben, was die Dauer der Gerinnungszeit anbetrifft, genau das gleiche Resultat wie vorhin; unter dem Mikroskop konnte man nun aber neben jenen zweifelhaften Formen nicht selten durchaus typische Güntheri beobachten, Doppelstäbchen mit lanzettförmig zugespitzten Enden und Kettchen, die eine andere Deutung gar nicht zuließen. Während der Säuregrad bei der ersten Ueberimpfung 7,8, 6,3 und 6,5° betrug, zeigte sich jetzt ein Säuregehalt von 7,5, 7,8 und 7,6° (inklusive des zu 2,9° gefundenen Säuregrades der sterilen Milch); die Säureproduktion war also bei Weiterimpfung etwas gestiegen, erreichte aber noch nicht ganz das gewöhnliche Maß, eben wohl aus dem Grunde, weil der Organismus in seiner Lebenskraft geschwächt erschien.

Ein letzter Pasteurisierversuch wurde im Anschluß an einen der ersten Hauptversuche, in gleicher Weise wie der eben beschriebene ausgeführt. 10 ccm einer aus Stall I stammenden Milchprobe, die bei 30° C aufgestellt war, wurden um 2 Uhr in sterile Reagenzgläschen eingeschmolzen und in bereits zuvor beschriebener Weise erhitzt. In der mit 1:10000 ccm der frischen Milch beschickten Hohen-Schicht waren 430000 Keime und zwar mit Ausschluß eines Coccus nur Güntheri, in 1 ccm der pasteurisierten Milch sieben punktförmige Kolonieen fraglicher Organismen zu finden. Von dreien derselben und zwar jenen, die im Habitus Bact. Güntheri am nächsten kamen, wurden Abstiche auf Milch gemacht. Bei einem derselben trat am 4., beim zweiten am 5. Tage, bei dem dritten Abstich jedoch keine Gerinnung ein. Leider waren die beiden ersten Milchgläschen durch Mesentericus-ähnliche Langstäbchen infiziert, die eine Auflösung des gebildeten Koagulums bewirkten, doch waren in letzterem eingeschlossen auch Güntheri-ähnliche Formen zu finden. Zwecks Weiterverfolgung dieser wurde mitten aus der festen Masse Material zur Ueberimpfung auf Milch entnommen; dabei war natürlich eine Mitinfektion durch die Langstäbchen keineswegs ausgeschlossen, doch lehrt die Erfahrung, daß Bact. Güntheri, falls in Milch vorhanden, über andere Keime, z. B. Bac.

mesentericus, leicht die Oberhand gewinnt, und tatsächlich trat diesmal bereits einige Stunden früher Gerinnung ein.

Aus dem Koagulum wurden alsdann mit einer großen Oese in drei Verdünnungen (a, b und c) Milchzuckeragar-Hohe-Schichten angelegt. In Verdünnung a traten neben beweglichen Langstäbchen 5 Kolonieen der gesuchten Organismen auf.

Die entsprechenden um 2 Uhr von 1 und 1:10 ccm des pasteurisierten Materials in Doppelproben gegossenen Molkengelatine-Plattenkulturen waren stark mit verflüssigenden Sporenbildnern besetzt und dürften, auch schon aus dem Grunde, weil für den Nachweis der durch das Erhitzen geschwächten Organismen ein möglichst günstiges Kulturverfahren (Milchzuckeragar-Hohe-Schicht) notwendig erschien, nicht maßgebend sein.

Tatsächlich waren also in einer mehrere Stunden lang aufbewahrten Stallmilch nach dem Pasteurisieren noch lebensfähige Keime von Bacterium Güntheri zu finden. Es fragt sich nun, wie ist diese Tatsache zu erklären und wie erklärt sich der anscheinende Widerspruch, daß andererseits laut vorausgegangener Untersuchungen Bact. Güntheri in Wasser, Bouillon und sogar in sterilisierter Milch trotz starker Einsaat beim Erhitzen auf 70° C abgetötet wurde.

In der Arbeit von Swellengrebel (1) fand ich die Bemerkung, Heim habe bei seinen Untersuchungen blauer Milch gefunden, daß die Bakterien in Milchklümpchen eingeschlossen, gegen äußere schädliche Einflüsse geschützt sind. Die Bakterien der blauen Milch, sagt Heim (1), ertrugen ein zweimaliges Aufwallen durch Erhitzen, wobei das erste Mal Teile der Milch nach oben geführt wurden und an der Wand des Gefäßes haften blieben, so daß sie auch durch Ausspülen mit Wasser sich nicht vollständig entfernen ließen; wurde das Gefäß mit frischer Milch beschickt, so wurde diese blau. In den an die Wand des Glases geschleuderten „Milchklümpchen", von welcher unzweifelhaft die Blaufärbung der nachgefüllten Milch ausging, war offenbar die Temperatur nicht so hoch gestiegen, daß dadurch die Bakterien der blauen Milch zerstört wurden. Dieser Art konnte bei meinen Untersuchungen, wie zuvor klargelegt wurde, den Bakterien kein Schutz gewährt werden, wohl aber dürfte ein anderer Faktor, nämlich Klümpchenbildung im Volumen der Milch, veranlaßt durch Auftreten von Säure, die schützende Rolle spielen. Eine solche Klümpchenbildung kann in Milch, die einen gewissen Säuregrad erreicht hat, zumal wenn noch eine Erhitzung derselben hinzutritt, sehr leicht zustande kommen, und das nimmt uns nicht wunder, denn Säure sowohl wie höhere Temperatur bewirken bekanntlich eine Fällung der Eiweißstoffe. In unserem Falle geht wohl ein Zusammenwirken beider Faktoren vor sich, doch dürfte die Hauptursache der Säurebildung zukommen, die sich in nächster Umgebung der Organismen vollzieht und diese so mit einem Eiweißmantel schützend umgibt. Klümpchenbildung in großem Maßstabe kann man beobachten, wenn Milch, die sich in einem gewissen Stadium vor der eigentlichen Gerinnung befindet, geschüttelt wird; es bleiben alsdann deutlich sichtbar feine Körnchen an den Wandungen des Aufbewahrungsgefäßes haften; dabei braucht die Milch noch gar nicht erhitzt zu sein. Daß solche Klümpchen tatsächlich Bakterien, speziell Bact. Güntheri einen Schutz gegen das Erhitzen gewähren können, wurde dadurch bewiesen, daß wiederholt von Gelatineplatten, die mit in säuerlichem Zustande pasteurisierter Milch beschickt waren, jenen Stellen, an denen weiße Klümpchen bereits dem bloßen

Auge sichtbar lagen, direkt Güntheri-Keime abgeimpft werden konnten.

Die bisher noch offen gelassene Frage, weshalb Güntheri-Keime in sterilisierter Milch einen gleichen Hitzegrad nicht überlebten, kann jetzt unschwer beantwortet werden; der Grund hierfür ist in der, durch das vorausgegangene Sterilisieren des Nährbodens bewirkten, eingreifenden Veränderung der Eiweißstoffe der Milch zu suchen. Ferner erklärt sich nun auch der Befund, demzufolge immer erst in der um 2 und um 5 Uhr pasteurisierten Milch Güntheri-Keime gefunden wurden, zu dieser Zeit nämlich hatte die bei 30° C aufbewahrte Milch einen für die Klümpchenbildung hinreichenden Säuregrad erreicht. Die Tatsache, daß eine derartige Resistenz nicht bei allen, sondern nur bei vereinzelten Organismen zu beobachten war, dürfte darin seine Erklärung haben, daß die gebildeten Klümpchen, um als Schutz wirksam sein zu können, eine gewisse Größe erreichen mußten, die wieder von verschiedenen Umständen, z. B. der Intensität der Säureproduktion der Bakterien abhing, je nachdem diese als Einzelkeime oder in Zellkomplexen, sei es in Kettenverbänden oder Zooglöen, in der Milch vorhanden waren.

Auch einzelne gegen Hitze widerstandsfähige Kokken wurden in früheren wie auch gelegentlich dieser Pasteurisierversuche gefunden, und ist deren Resistenz wohl ebenfalls auf ihre Fähigkeit, Säure produzieren zu können, zurückzuführen. Es ist ferner wohl kein Zufall, daß auch jene Bakterien der blauen Milch, die, obwohl gleichfalls zur Sporenbildung nicht befähigt, große Widerstandsfähigkeit gegen Hitze aufwiesen, tatsächlich Säurebildner sind, die sich überhaupt erst bei beginnender Säuerung entwickeln.

Weiter können unter dem Schutze dieser Milchklümpchen, deren Zustandekommen durch Anwesenheit säureproduzierender Organismen bedingt sein kann, auch andere Bakterienarten, soweit sie nicht von den immer bereits in größerer Menge vorhandenen Güntheri abgetötet wurden, der Vernichtung durch Erhitzen entgehen. Die für den III. Hauptversuch verwendete Milch war stark Bact. Güntheri-haltig, demzufolge traten schon um 11 Uhr in den Kulturen, die von der gleichzeitig pasteurisierten Milch angelegt waren, Keime dieser Art auf, um 2 Uhr aber außerdem noch andere nicht sporenbildende Arten, desgleichen um 5 Uhr im IX. Versuche (Kokken und Kurzstäbchen). Der Befund Russels (1), demzufolge Milch höheren Säuregrades im allgemeinen mehr der Erhitzung widerstehender Keime aufweist, als solche mit niedrigerem Säuregrad, spricht für die dargelegte Annahme und findet in ihr seine Deutung. Auch Severin und Budinoff (1) fanden nichtsporenbildende Bakterien (z. B. Kokken) in pasteurisierter Milch, und es braucht der Fall, in dem sie auch Bact. Güntheri antrafen, nach den vorangegangenen Darlegungen nicht notwendigerweise, wie sie es annehmen, auf einer Infektion zu beruhen.

Bemerkenswert und zugleich die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen bestätigend, war eine gelegentlich der Suche nach anaëroben Bakterien im VII. Versuche gemachte Beobachtung. In Doppelproben a und b wurden 5 ccm der in üblicher Weise um 8, 11, 2 und 5 Uhr pasteurisierten Milch, die zuvor bei 30° im Thermostaten gestanden hatte, unter anaërobem Verschluß gehalten und obgleich diesmal bei der Pasteurisation sogar eine Temperatur von 80° C 1/4 Stunde lang angewendet wurde, war es dennoch einigen Güntheri-Keimen dank der gebotenen günstigen Bedingungen gelungen, Schutz zu finden. Um

8 Uhr waren, wie nach den vorausgegangenen Auseinandersetzungen zu erwarten stand, keine der gesuchten Keime zu finden, um 11 Uhr jedoch wurden bereits (es dürfte in diesem Falle die Milch besonders Güntheri-haltig gewesen sein, vielleicht auch hatte der Zufall eine Rolle gespielt) in einer der Doppelproben Güntheri-Formen konstatiert. Um 2 Uhr hatte stets bereits eine bedeutende Zunahme der Güntheri-Keime stattgefunden, dementsprechend waren sie auch in Probe a fast ausschließlich zu finden. Wenn Probe b, wie auch die entsprechend um 5 Uhr angelegte, keine der gesuchten Mikroorganismen enthielt, so beweist dies nur, daß die Hauptmasse durch das Pasteurisieren zu Grunde gegangen war, einige wenige Keime aber lebensfähig blieben, wohl in so geringer Zahl, daß sie diesmal in 5 ccm der pasteurisierten Milch nicht enthalten waren. In der letztgenannten Probe (a, 5 Uhr) könnte auch der dort konstatierte Bac. putrificus unsere Organismen unterdrückt haben. Wiederholt wurde die Beobachtung gemacht, daß in Hoher-Schicht-Kultur, in der gleichzeitig Bac. putrificus gewachsen war, die Güntheri-Kolonieen total unregelmäßige Gestalt angenommen hatten, desgleichen auch das Bakterium selbst sonderbare, offenbar involvierte Zellen zeigte, ausgezogene Spindel- und Hantelformen, letztere oft mit ungleich großen Enden und Spitzen, ferner sehr eng geschlossene Kettchen, mehr Fäden mit segmentalen Einschnürungen und zugespitzten Enden ähnlich; ein andermal fehlte den Kolonieen der Säurehof; ihre Zahl war alsdann stets reduziert.

Eine Kokken-Species, die in gleicher Weise wie Bact. Güntheri in sterilisierter Milch einer Pasteurisation unterzogen wurde — auch sie hatte bereits einmal das Pasteurisieren überdauert — erwies sich im Gegensatz zu erstgenanntem Organismus auch in diesem Falle zum Teil als resistent, denn auf den nach dem Pasteurisieren angelegten Kulturböden waren Kolonieen der gleichen Art, wenn auch in verminderter Zahl zu finden; im Laufe der ersten 5 Versuche wurden noch zwei andere Kokkenarten und eine Sarcina aus pasteurisiertem Material isoliert. Die Resistenz dieser Arten wurde nicht weiter verfolgt, doch scheint es, als ob es unter den Coccaceen verschiedene Species gibt, die in Milch einen Hitzegrad von 70° C ½ Stunde lang überleben können, denn auch Schweitzer (1) fand, daß eine gelbe Sarcine das Pasteurisieren im Kobrak-Apparate, d. h. eine Temperatur von 58 bis 65° 1½ Stunden lang überlebten. Russel und Hastings (1) isolierten aus pasteurisierter Milch einen farbstoffbildenden nicht verflüssigenden Coccus, dessen Abtötungstemperatur in Bouillon bei 75—76° C liegt, in Milch aber — und dies spricht für unseren Befund — erst bei 77° C. Interessant ist, nebenbei erwähnt, auch, daß dieser Organismus erst bei so hoher Temperatur abgetötet wird, obgleich er bei relativ hoher Temperatur, bei 38°, viel schlechter wächst als bei 20—22°. Storch (1) will bei Sterilisierversuchen mit Milch einen Micrococcus gefunden haben, der eine Temperatur von 110° 6 Minuten lang ertrug.

(Schluß folgt.)

Beiträge zur Kenntnis der Mikroflora des Stalldüngers.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Institutes der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und Dr. **W. Kuntze.**

Ueber die Bakteriologie des Stalldüngers liegen verhältnismäßig nur erst recht wenig Arbeiten vor. Sowohl aus diesem Grunde dürfte ein kurzer Bericht über einige bakteriologische Düngeruntersuchungen, die bereits vor mehreren Jahren (1903—1904) von uns erledigt wurden, einiges Interesse darbieten, wie auch fernerhin deswegen, weil zu diesen Untersuchungen ein ursprünglich völlig gleichartiges Material diente, das von Herrn Prof. Dr. W. Wolf in Döbeln 14 Jahre hindurch in besonders konstruierten, keimdicht schließenden Apparaten im konstanten Sauerstoffstrom gehalten wurde, und zwar in dem einen Falle ohne Konservierungsmittel, im anderen Falle mit freie Phosphorsäure enthaltendem Superphosphatgips und Kainit versetzt. Während hier auch nach dieser langen Zeit nur ein sehr geringer Gewichtsverlust an der inzwischen humusartig gewordenen Masse zu konstatieren war, fand sich in jenem Gefäß nur noch ein geringer Rest eines dunkelgefärbten, geruchlosen, feuchten Breies, der überhaupt nicht mehr erkennen ließ, daß er ursprünglich Stalldünger dargestellt hatte. Ueber die chemischen Veränderungen, die dieser Dünger im konservierten bezw. nicht konservierten Zustande erfahren hat, sind von dem genannten Herrn umfangreiche Aufzeichnungen gemacht worden, an deren Bearbeitung und Veröffentlichung er indessen bisher verhindert war. Als die Versuche (1889) in Gang gebracht wurden, ist leider eine bakteriologische Untersuchung, auf die man zu jener Zeit ja noch weniger Wert legte als heute, nicht ausgeführt worden; ein Vergleich in dieser Hinsicht ist also nicht möglich. Wie jedoch aus den weiteren Ausführungen zu ersehen sein wird, scheinen im ganzen alle an den verschiedenen Umsetzungen beteiligten Mikroorganismen eine verhältnismäßig nur geringe Einbuße an Lebenskraft erlitten zu haben. Selbstverständlich beschränkten wir uns nicht lediglich auf die Feststellung der Zahl der aërob und anaërob auf Gelatine gedeihenden Kolonieen, sondern es wurden außerdem mit dem Dünger verschiedene Umsetzungsversuche eingeleitet, daraus die am häufigsten vorkommenden Arten isoliert und diese in Bezug auf ihre spezifische Wirksamkeit geprüft. Wir teilten uns dabei in der Weise in die Arbeit, daß vom Berichterstatter die Probenahme (selbstverständlich unter Innehaltung der nötigen Vorsichtsmaßregeln), die Zählungen, sowie die Umsetzungsversuche mit den Roh- und Reinkulturen erledigt wurden, während Dr. Kuntze die Isolierung und die Bestimmung der an den verschiedenen Umsetzungen beteiligten Mikroorganismen übernahm.

1. Keimzahlbestimmungen.

Sofort nach der Probenahme wurden die Proben in unser Laboratorium überführt und hier zunächst Gußkulturen unter Benutzung von Mistextraktgelatine[1]) angelegt. Dabei verfuhren wir in der Weise,

1) Diese Gelatine wurde in der Weise bereitet, daß man 1 kg frischen Rinderdünger mit 2 Liter Wasser versetzte, unter wiederholtem Umrühren 24 Stunden extra-

daß zunächst je 2 g der beiden Düngerproben in je 1 Liter sterilisiertem Leitungswasser gründlich verteilt und weiterhin 4 verschiedene Verdünnungen (1 Gewichtsteil Dünger in 25000, 125000, 250000 bezw. 1250000 Gewichtsteilen Wasser) angelegt wurden. Bei den großen Differenzen, die somit die einzelnen Verdünnungen aufwiesen — sie verhielten sich wie 50:10:5:1 — durfte einerseits mit Sicherheit darauf gerechnet werden, hinreichend, aber nicht zu stark besäte Platten zu erhalten, andererseits ergaben sich, da von den verschiedenen Verdünnungen je zwei Parallelen angelegt wurden, stets 8 mit einander vergleichbare Gußkulturen, so daß die danach errechneten Keimzahlen als hinlänglich genau erachtet werden dürften. Vollständig zutreffend sind sie natürlich nicht, da auf der Gelatineplatte nie sämtliche vorhandenen Keime zur Entwickelung kommen; außerdem zeigte es sich, daß zuweilen um kleine, mit in die Gelatine geratene Strohstückchen die Kolonieen dicht gedrängt erschienen, also die Keime trotz aller Bemühungen nicht gleichmäßig in der Aufschwemmung hatten verteilt werden können. Immerhin gewähren die nachstehend mitgeteilten Zahlen einen in Anbetracht des geringen Wertes, der derartigen Ermittelungen prinzipiell beizumessen ist, hinreichend zuverlässigen Ueberblick über den Gehalt der beiden Düngerproben an aëroben gelatinewüchsigen Keimen.

An Bakterienkolonieen wurden gezählt (Mittel der beiden Parallelen, 10-tägige Beobachtungszeit):

in der	1.	2.	3.	4. Verdünnung
im nicht konservierten Dünger	487	125	48	10
im konservierten Dünger	95	32	18	5

Danach ist die Zahl der in je 1 g Substanz vorhandenen aëroben, gelatinewüchsigen Bakterien zu schätzen auf rund

12,5 Millionen im nicht konservierten Dünger
3,75 „ im konservierten Dünger

Schimmelpilze fanden sich stets bis zur 3. Verdünnung, in der jedesmal eine Kolonie anzutreffen war, so daß auf das Gramm Dünger neben den Bakterien noch je 125000 Schimmelpilzindividuen zu rechnen wären.

Wie gesagt, messe ich diesen Zahlen, wie überhaupt den Keimzahlen in fermentierenden Substraten, keinerlei erhebliche Bedeutung bei. Aus ihnen ist lediglich zu ersehen, daß trotz der langen Aufbewahrungszeit die Keimzahl sich immer noch auf ziemlich ansehnlicher Höhe befindet. Daß die Gesamtzahl im nicht konservierten Dünger etwa 4mal so groß ist als im konservierten, ist naturgemäß zunächst auf das sehr beträchtliche Schwinden des keimführenden Mediums zurückzuführen; außerdem aber dürfte wohl die Tatsache, daß eben nur etwa 4mal (nicht, wie es nach dem Gewichtsverhältnis eher zu erwarten wäre, etwa 20mal) so viel Bakterien mit Hilfe der befolgten Methode nachgewiesen werden konnten, auf eine stärkere Abschwächung der Lebenskraft der im nicht konservierten Dünger vorhandenen Keime zurückzuführen sein. Für diesen Umstand spricht auch die Beobachtung, daß auf den mit konserviertem Dünger angelegten Platten die Zahl der Kolonieen in den zweiten 5 Tagen nicht mehr beträchtlich zunahm, während dies im anderen Falle sehr deutlich wahrzunehmen war.

Bei anaërober Kultur auf Traubenzuckergelatine blieb bei Ver-

hierte und nach dem Filtrieren 0,5 Prom. K_2HPO_4, 10 Proz. Gelatine, sowie diejenige Sodamenge hinzufügte, die zur Erzielung einer gegen Lackmus schwach alkalischen Reaktion erforderlich war.

wendung des nicht konservierten Düngers jede Entwickelung aus, was infolge der lange andauernden Einwirkung des Sauerstoffstromes auf die schließlich sehr geringe Substanzmenge recht wohl begreiflich erscheint. Im konservierten Dünger konnten auch nur rund 600000 anaërobe, und zwar, wie die weiteren Untersuchungen lehrten, fakultativ anaërobe Keime im Gramm ermittelt werden. Auch sie waren augenscheinlich wenig lebenskräftig; erst nach 3-wöchiger Versuchsdauer hatte die Entwickelung ihren Höhepunkt erreicht.

Uebrigens ließ auch die mikroskopische Prüfung der Düngeraufschwemmung (2 g pro Liter) deutlich erkennen, daß die Menge und die Lebensenergie der vorhandenen Keime nicht mehr bedeutend sein konnte. Bewegliche Formen waren im hängenden Tropfen nicht wahrzunehmen; im gefärbten Ausstrichpräparate waren ebenfalls nur wenig zahlreiche und in der Regel unvollständig gefärbte Individuen erkennbar.

2. Umsetzungsversuche.

Wie eine zuverlässige Kenntnis in Bezug auf die Wirksamkeit der im Boden vorhandenen Organismen nicht durch Keimzahlbestimmungen, sondern vielmehr durch zweckmäßig eingerichtete Umsetzungsversuche erreicht werden kann, so durfte auch in diesem Falle die Erwartung berechtigt erscheinen, durch entsprechende Untersuchungen einen vollkommeneren Ueberblick über die in den beiden Düngerproben vorhandene Mikroflora zu erlangen.

Vor allem schien es von Wichtigkeit, den Eiweißabbau, die Harnstoffspaltung, die Bildung und die Zersetzung des Salpeters, sowie die Cellulosezersetzung einer entsprechenden Prüfung zu unterziehen.

Zur Impfung der verschiedenen Lösungen, über deren Zusammensetzung sogleich zu sprechen sein wird, konnten nur 5 Proz. Dünger verwendet werden, da das verfügbare Material nicht gestattete, auch in diesem Falle 10 Proz. zur Impfung zu verwenden, wie es sich nach meinen früher[1]) publizierten Mitteilungen für Bodenuntersuchungen am günstigsten erwiesen hat. Aus jener Veröffentlichung ist aber auch zu ersehen, daß die Verwendung von 5 oder 10 Proz. Substanz auf den Verlauf der Umsetzung nicht von allzu großer Bedeutung ist, insbesondere darf auch schon bei Verwendung von 5 Proz. auf eine befriedigende Uebereinstimmung der Ergebnisse der Parallelversuche gerechnet werden.

1. Als Maßstab für die Intensität des Abbaues hochorganisierter Stickstoffverbindungen wurde die Zersetzung einer Peptonlösung (1 Proz. Pepton e carne Merck in Leitungswasser) benutzt. Zu der Zeit, als diese Untersuchungen ausgeführt wurden, war noch nichts darüber bekannt, ob eine solche Peptonlösung, wie sie von Remy zur Feststellung der „Fäulniskraft" verwendet wurde, wirklich hierzu geeignet sei. Spätere, im hiesigen Laboratorium ausgeführte Untersuchungen[2]) haben nun allerdings ergeben, daß die verschiedenen Peptonsorten sowohl unter sich, wie auch im Vergleich mit den im Boden zur Zersetzung kommenden organischen Substanzen mehr oder minder beträchtliche Differenzen aufweisen. Wie es sich mit den hochorganisierten Stickstoffverbindungen des Düngers in dieser Hinsicht verhält, wissen

1) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262, 448.
2) Löhnis und Parr, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 518.

wir noch nicht. Jedenfalls aber dürfen die nachfolgenden Zahlen immerhin als ein brauchbarer Vergleichsmaßstab für das spezifische Verhalten der beiden Düngerproben angesehen werden.

Nach 5, 10, 15 bezw. 20 Tagen wurden je 100 ccm Lösung inkl. Dünger mit Magnesia usta destilliert, nach 20 Tagen außerdem Gesamtstickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt. In je 100 g frisch bereiteter Lösung waren 128,8 mg Peptonstickstoff vorhanden.

In je 100 g Lösung + 5 g Dünger durch Magnesia usta abspaltbar mg N	nach 5 Tagen		nach 10 Tagen		nach 15 Tagen		nach 20 Tagen	
	a	b	a	b	a	b	a	b
nicht konservierter Dünger, sterilisiert	11,20	11,20	.	.	.	.	11,20	11,20
„ „ „ nicht sterilisiert	58,10	58,10	81,20	81,20	88,90	86,10	84,70	84,00
konservierter Dünger, sterilisiert	8,90	8,90	.	.	.	.	8,90	8,90
„ „ nicht sterilisiert	54,60	54,60	77,50	78,40	72,10	74,20	68,30	72,45

Nach Subtraktion der aus den sterilisierten Kolben abdestillierten Stickstoffmengen wurden demnach von dem organischen Stickstoff im Mittel abgespalten

innerhalb	5	10	15	20 Tagen
durch nicht konservierten Dünger	36,41 %	54,35 %	59,24 %	56,79 %
„ konservierten Dünger	35,27 „	53,61 „	49,88 „	47,73 „

In der ersten Zeit zeigen also beide Düngerproben ein völlig übereinstimmendes Verhalten [1]), daß der Ammoniakgehalt in den mit konserviertem Dünger geimpften Kolben späterhin etwas rascher abnahm, mag wohl auf eine in den betreffenden Versuchsgefäßen sich ausbreitende Schimmelvegetation zurückzuführen sein, die jedenfalls einen Teil des abgebauten Stickstoffs in organische Bindung zurückführte. Salpetersäure war in keinem Falle nachweisbar. Der Gesamtstickstoff betrug am Schluß der Versuchsreihe (mg N pro 100 ccm + 5 g Dünger):

	nicht konservierter Dünger	konservierter Dünger
sterilisiert	145,92	139,44
nicht sterilisiert	93,41	99,59
Stickstoffverlust	52,51	39,85
	= 35,99 Proz.	= 28,58 Proz.

Ob es sich bei diesen Stickstoffverlusten lediglich um Ammoniakverdunstung gehandelt hat oder ob der Stickstoff auch in anderer Form entwichen ist, muß dahingestellt bleiben. Die Reaktion war in den mit nicht konserviertem Dünger beschickten Kolben deutlich alkalisch, im anderen Falle dagegen neutral. Die zersetzte Peptonlösung roch in der ersten Zeit intensiv nach Fäkalien, später trat der charakteristische Kuhstallgeruch deutlich hervor.

2. Die Intensität der Harnstoffzersetzung wurde in analoger Weise in der von Beijerinck [2]) vorgeschlagenen 10-proz. Harnstoffbouillon festgestellt. Die Versuchskolben waren mit Säure-Waschflaschen und Vorlagen verbunden und wurden dauernd gelüftet [3]) Nach 5, 10, 15 bezw. 20 Tagen wurden in den Kolben, sowie in den Vorlagen das gebildete bezw. übergegangene Ammoniak durch Titration ermittelt. Je

1) Auch in diesem Falle ergab sich demnach keine Uebereinstimmung zwischen Keimzahl auf der Gelatineplatte und der Intensität der Peptonzersetzung; vergl. Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 4.

2) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 41.

3) Es wurde dieselbe Einrichtung benutzt, die ich in meiner ersten Arbeit über die Kalkstickstoffzersetzung näher beschrieben habe (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 95).

100 ccm der frisch bereiteten Lösung enthielten 4666,7 mg Stickstoff in Form von Harnstoff.

In je 100 ccm Lösung + 5 g Dünger mg N als NH_3	nach 5 Tagen		nach 10 Tagen		nach 15 Tagen		nach 20 Tagen	
	a	b	a	b	a	b	a	b
nicht konservierter Dünger, sterilisiert	51,0	51,0	.	.	.	.	51,0	51,0
„ „ „ nicht sterilisiert	2024,1	2808,1	4316,6	4631,4	4851,6	4615,7	4481,9	4435,8
konservierter Dünger, sterilisiert	45,0	45,0	.	.	.	.	45,0	45,0
„ „ nicht sterilisiert	3262,2	3623,6	4593,9	4536,2	4477,8	4535,4	4277,8	4292,7

Nach Subtraktion der in den sterilisierten Kolben ermittelten Stickstoffmengen wurden demnach von dem Harnstickstoff im Mittel gespalten:

	innerhalb 5	10	15	20 Tagen
durch nicht konservierten Dünger	50,68 %	94,78 %	100,34 %	95,55 %
„ konservierten Dünger	72,84 „	96,86 „	95,93 „	90,86 „

Die im konservierten Dünger vorhandenen Harnstoffbakterien zeigten demnach eine merklich größere Aktivität, wie namentlich die nach 5 Tagen ermittelten Befunde deutlich erkennen lassen. Sobald die Spaltung sämtlichen Harnstoffes vollzogen war, setzte eine ziemlich lebhafte Ammonassimilation ein, die eine fortschreitende Verringerung des als Ammoniak nachweisbaren Stickstoffes im Gefolge hatte.

3. Ueber die Salpeterbildung im Dünger bestehen bekanntlich recht abweichende Ansichten. Während manche Beobachtungen für eine nicht unbedeutende Salpeterbildung sprechen, wurde in anderen Fällen Salpeter vollständig vermißt. Indessen muß es bei den zuletzt genannten Ermittelungen dahingestellt bleiben, ob etwa durch nachfolgende Nitratreduktion, Salpeterassimilation oder durch Denitrifikation die vielleicht zunächst gebildeten geringen Salpetermengen wieder zum Schwinden gebracht wurden. Jedenfalls kann die früher mit großem Nachdruck gegen eine Salpeterbildung im Dünger ins Feld geführte Abneigung der Salpeterbakterien gegen organische Substanz nicht mehr als von so ausschlaggebender Bedeutung angesehen werden, da alle neueren Beobachtungen gezeigt haben, daß zwar gewisse organische Substanzen deutlich hemmend wirken, daß dies aber für die organischen Bestandteile des Stalldüngers und des Bodens viel weniger gilt, im Gegenteil manche dieser Substanzen sogar ein wenig fördernd wirken können. Andererseits spricht allerdings die deutlich hemmende Wirkung, die Wasserstoff und Methan auf die Tätigkeit der Nitrifikationsorganismen ausüben, jedenfalls nicht für die Möglichkeit einer lebhaften Salpeterbildung im Dünger. Es kommt hinzu, daß wohl nicht gerade selten durch das Fehlen der Salpeterbakterien, die doch nur zufällig und auf Umwegen in den lagernden Stalldünger gelangen können, der in Rede stehende Prozeß von vornherein ausgeschlossen sein dürfte.

Im vorliegenden Falle wurde auf etwa vorhandene Salpeterbakterien in der Weise gefahndet, daß eine nach Omelianskis[1]) Vorschrift bereitete, aber aus an anderer Stelle[2]) dargelegten Gründen mit Kreide statt mit basischem Magnesiumkarbonat versetzte 0,2-proz. Ammonsulfatlösung zu je 50 ccm in 300 ccm Erlenmeyer-Kolben verteilt und mit je 5 Proz. Dünger geimpft wurde. Nach 4 bezw. 8 Wochen erfolgte durch Destillation mit Natronlauge die Bestimmung des noch vor-

1) Omelianski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. p. 539.
2) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. p. 709.

handenen Ammoniaks, im Anschluß daran wurde der in alkalischer Lösung durch Zink und Eisen reduzierbare Stickstoff bestimmt, der indessen keineswegs ausschließlich als Salpeterstickstoff angesprochen werden darf; sicherlich entstammt er zum Teil den organischen Stickstoffverbindungen des Düngers. Metaphenylendiamin gab nach 4 Wochen keine, Diphenylamin eine schwache Reaktion, wie sie auch in sterilen Kolben nach dieser Zeit häufig ist.

In je 50 ccm Lösung + 2,5 g Dünger mg N		am Anfang	nach 4 Wochen		nach 8 Wochen	
			a	b	a	b
nicht konservierter Dünger	als Ammoniak	19,91	16,94	17,08	13,73	13,67
	reduzierbar	2,82	2,34	2,20	2,37	2,25
	zusammen	22,73	19,28	19,28	16,10	15,92
konservierter Dünger	als Ammoniak	17,68	15,90	16,06	14,55	14,63
	reduzierbar	1,37	1,86	1,79	2,86	2,77
	zusammen	19,05	17,76	17,85	17,41	17,40

In den mit nicht konserviertem Dünger geimpften Kolben hat demnach sicher keine Nitrifikation stattgefunden. Im anderen Falle könnte man die nach 8 Wochen deutlich hervortretende Erhöhung der für den reduzierbaren Stickstoff ermittelten Zahl als Hinweis auf eine geringfügige Salpeterbildung ansehen. Meines Erachtens handelt es sich indessen hierbei entweder um kleine, der Laboratoriumsluft entstammende Nitratmengen oder um andere aus dem Ammoniak oder aus dem organischen Stickstoff durch Organismentätigkeit entstandene reduzierbare Stickstoffverbindungen organischer Natur.

Die im Laufe der Zeit immer deutlicher hervortretende Verringerung des Ammoniakstickstoffes ist zweifellos vornehmlich auf Ammonassimilation zurückzuführen. Dafür sprechen zunächst die Schimmelpilzvegetationen, die sich in den Kolben ausbreiteten, weiterhin aber auch die nur sehr geringen Aenderungen des Gesamtstickstoffes, die nach Verlauf von 8 Wochen zu konstatieren waren. Es fanden sich im Mittel in Milligramm in je 50 ccm Lösung + 5 Proz. Dünger:

	nicht konservierter Dünger	konservierter Dünger
sterilisiert	52,50	39,55
nicht sterilisiert	49,88	38,22
Verlust	2,12	0,73
	= 4,03 Proz.	= 1,84 Proz.

Es hat demnach, wenn überhaupt, so doch nur eine sehr geringe Ammoniakverdunstung stattgefunden.

4. Die Salpeterzersetzung wurde in Giltay-Lösung[1]) verfolgt, die zu je 100 ccm in je 100 ccm Rundkolben verteilt und mit je 5 g Dünger geimpft wurde. Nach 7 Tagen begann die Schaumbildung; in den mit konserviertem Dünger beschickten Kolben wurde sie nach 9 Tagen lebhaft, während sie im anderen Falle nur sehr schwach blieb. Nach 13 Tagen gab die Prüfung mit Diphenylamin negative Befunde. Je 100 ccm der frisch bereiteten Lösung enthielten 32,76 mg Salpeterstickstoff. In der zersetzten Lösung wurde durch Destillation mit Natronlauge der Ammoniakstickstoff und nach dem Kjeldahl-Verfahren der Gesamtstickstoff (Milligramm pro 100 ccm) ermittelt.

1) Nach dem von Burri und Stutzer, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. I. p. 393 mitgeteilten Rezept.

	nicht konservierter Dünger		konservierter Dünger	
	Ammon-N	Gesamt-N	Ammon-N	Gesamt-N
sterilisiert	4,20	66,99	2,24	54,04
nicht sterilisiert	3,64	46,02	1,68	34,82
	Verlust	20,97	Verlust	19,22
		= 64,01 Proz.		= 58,67 Proz.

Diese Zahlen lehren, daß die Stärke der Schaumbildung und der Umfang der Denitrifikation ein entgegengesetztes Verhalten gezeigt haben[1]). Von einer irgend erheblichen Nitratreduktion war nichts wahrzunehmen, während die Salpeterassimilation einen immerhin beträchtlichen Teil des Salpeterstickstoffes der Denitrifikation entzog.

Daß der Stickstoffverlust ausschließlich auf Salpeterzersetzung zurückzuführen ist, geht aus einigen Versuchen hervor, in denen je 5 g Dünger in 100 ccm 1-proz. wässeriger Traubenzuckerlösung (+ 0,5 Prom. K_2HPO_4) 8 Wochen lang aufbewahrt wurden. Die Gesamtstickstoffbestimmung ergab folgende Resultate:

	nicht konservierter Dünger	konservierter Dünger
sterilisiert	31,26 mg	20,52 mg
nicht sterilisiert	31,27 „	20,45 „

Auch in diesen Kolben war reichliche Gasbildung und lebhafte Schimmelvegetation zu konstatieren.

5. Bei der Prüfung der Cellulosezersetzung wurde der von Omelianski[2]) beschrittene Weg innegehalten. Literkolben wurden mit je 5 g Filtrierpapier, 4,5 g Kreide, sowie 5 g Dünger beschickt und mit der nach des genannten Autors Vorschrift zusammengesetzten Lösung gefüllt. Nach 40 Tagen beginnt in den mit konserviertem Dünger beschickten Kolben eine Organismenentwickelung sichtbar zu werden, die weiterhin immer lebhafter wird; doch findet keine sichtbare Gasentwickelung statt. In dem einen der mit nicht konserviertem Dünger eingeleiteten Versuche beginnt nach 4 Monaten eine geringe Entwickelung, nach 7 Monaten ist das Papier etwas zersetzt, während im Parallelkolben keinerlei Entwickelung und Veränderung wahrgenommen werden kann. Nach Verlauf von reichlich 7 Monaten wurde abfiltriert, die Rückstände mit Salzsäure behandelt, ausgewaschen, getrocknet und lufttrocken gewogen. Es resultierten nachstehende Befunde:

	nicht konservierter Dünger		konservierter Dünger	
	a	b	a	b
sterilisiert	5,870 g	5,870 g	6,155 g	6,155 g
nicht sterilisiert	5,730 „	5,078 „	3,305 „	3,035 „
Verlust	0,140 g	0,792 g	2,850 g	3,120 g
	= 2,80 Proz.	= 15,84 Proz.	= 57,00 Proz.	= 62,40 Proz.

Aus den Zahlen ist erstens zu ersehen, daß die Bestandteile des Düngers fast völlig löslich gewesen sind (beim konservierten Dünger etwas weniger, wegen der hier noch vorhandenen Strohteile), zweitens aber ergibt sich, daß unter der Einwirkung der im konservierten Dünger

1) Wie ich an anderer Stelle (l. c. Bd. XIV. p. 603) mitteilte, kann mitunter die Denitrifikation in ansehnlichem Umfange ohne jede sichtbare Gasentwickelung verlaufen. Daß im vorliegenden Falle der konservierte Dünger lebhafte Schaumbildung trotz geringer Denitrifikation veranlaßte, ist auf Vergärung des Zuckers zurückzuführen. Eine gleichstarke Schaumbildung fand statt, wenn eine entsprechend zusammengesetzte Lösung, die aber an Stelle von Salpeter Ammonsulfat enthielt, mit konserviertem Dünger geimpft wurde.

2) Omelianski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 226.

lebenden Organismen die Cellulosezersetzung sich zwar auch nicht mehr sehr intensiv, aber doch jedenfalls viel lebhafter gestaltet hat als in den mit nicht konserviertem Dünger geimpften Versuchsgefäßen. Hier blieb in dem einen Falle trotz der relativ großen Impfmenge jede Cellulosezersetzung aus.

3. Reinkulturen.

Von den Zählplatten wurde eine größere Zahl von Abimpfungen vorgenommen. Die meisten dieser Bakterien erwiesen sich als Proteus-Formen und als Urobacillus Pasteurii. Sehr häufig wurden auch verflüssigende und nicht verflüssigende Fluoreszenten gefunden, vereinzelt Micrococcus candicans und nur einmal Bacillus subtilis.

Aus den Peptonlösungen wurden unter Verwendung von Fleischgelatine 12 Stämme isoliert, davon erwiesen sich bei eingehender Prüfung 5 als zu Bact. putidum gehörig, 1 war ein typisches Bact. fluorescens, 1 ein Micrococcus candicans, 4 repräsentierten Coli-Varietäten, die sämtlich nicht mehr Traubenzucker zersetzten und Milch alkalisch machten (also dem Bac. faecalis alcaligenes an die Seite zu stellen sind); der letzte der isolierten Stämme, der Agar und Gelatine ebenso wie die Kartoffel tiefbraun verfärbte, muß nach seinen sonstigen Eigenschaften entweder als braune Varietät des Bact. putidum oder des Bact. syncyaneum aufgefaßt werden[1]. Von jener Art wurde, soviel mir bekannt, eine solche Varietät noch nicht beschrieben, während sie bei den verflüssigenden Fluorescenten bereits wiederholt angetroffen wurde. Braune bis schwarze Rassen des Bact. syncyaneum sind dagegen nichts Seltenes. Unser Stamm rief keine Verfärbung der Milch hervor, die Syncyaninbildung fehlte also vollständig, und aus diesem Grunde könnte er wohl eher dem Bact. putidum zugewiesen werden. Wie aus den nachstehenden Zahlen hervorgeht, zersetzen übrigens auch typische Stämme des Bact. syncyaneum (der von uns geprüfte, von Král bezogene, färbte die nach Lehmanns Vorschlag mit Zucker versetzte Milch prachtvoll blau) die Peptonlösung mit fast der gleichen Intensität wie die Fluoreszenten.

Zur Feststellung der Wirksamkeit der verschiedenen Reinkulturen wurde 1-proz. Peptonlösung (142 mg N pro 100 ccm) zu je 10 ccm in Reagenzgläsern sterilisiert und mit je einer Platinöse voll Impfmaterial versehen. Dieses wurde bei der ersten Abimpfung den betreffenden Agarstrichkulturen entnommen, weiterhin wurde jede folgende Versuchsreihe mit Material von der vorhergehenden geimpft. Die Versuchsdauer betrug 1 bezw. 2 Wochen. Aus 10 ccm der sterilen Peptonlösung wurden durch Magnesia usta 0,65 mg Stickstoff ausgetrieben.

(Siehe Tabelle p. 684.)

Die Wirksamkeit der geprüften Stämme ist demnach im wesentlichen konstant geblieben. Die zweiwöchige Versuchsdauer hatte im allgemeinen eine Vermehrung des Stickstoffabbaues, aber nicht von erheblichem Umfange, zur Folge.

---

1) Aus den mit nicht konserviertem Dünger eingeleiteten Peptonzersetzungsversuchen wurden ausschließlich verflüssigende und nicht verflüssigende Fluoreszenten isoliert, während bei Verwendung von konserviertem Dünger zwar Bact. putidum, nicht aber fluorescens anzutreffen war, vielmehr an dessen Stelle die anderen oben genannten Formen traten.

In je 10 ccm Lösung durch Magnesia abspaltbar mg N	1. (1 Woche)		2. (2 Wochen)		3. (1 Woche)		4. (2 Wochen)		5. (1 Woche)	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Bact fluorescens	3,22	3,22	3,36	3,64	2,94	2,94	3,78	3,92	2,94	2,94
„ putidum	2,52	2,52	2,94	2,66	2,66	2,38	3,22	2,94	2,52	2,52
„ „ var.	3,08	3,08	3,22	3,22	3,22	2,38	3,78	3,78	3,36	2,80
„ syncyaneum	2,80	2,66	3,01	3,22	2,66	2,73	3,22	3,36	2,66	2,94
„ alcaligenes	3,08	3,22	3,15	3,50	3,08	2,94	3,36	3,50	2,80	3,26
Micr. candicans	0,98	1,12	1,40	0,98	1,54	1,40	1,12	1,40	1,26	1,26

Im Mittel aller Versuche wurden (in Prozenten des Gesamtstickstoffs) durch Magnesia usta abgespalten (steril 4,60 Proz.):

Bact. fluorescens	22,74 Proz.	Bact. syncyaneum	20,60 Proz.
„ putidum	18,90 „	„ alcaligenes	22,56 „
„ „ var.	22,48 „	Micr. candicans	8,80 „

Sowohl hinsichtlich der Art der isolierten Bakterien wie in Bezug auf deren Wirksamkeit stimmten die in diesem Falle erlangten Resultate in der Hauptsache mit denjenigen überein, die wir bei anderer Gelegenheit unter Verwendung von Erde als Impfmaterial erhielten[1]).

Aus der Harnstofflösung wurden gleichfalls nach Abschluß der Umsetzungsversuche mittels 2-proz. Harnstofffleischextraktgelatine 13 Stämme isoliert. In vollkommener Uebereinstimmung mit Beijerincks Angaben[2]), denen zufolge die „Vorflora“ in der Harnstoffbouillon nach einigen Tagen regelmäßig von Urobacillus Pasteurii Miquel überwuchert wird[3]), erwiesen sich 12 der isolierten Stämme als identisch mit dieser Art. Der 13. Stamm wurde als Micrococcus pyogenes γ albus (Rosenb.) Lehm. et Neum. (Micr. ureae liquefaciens Flügge) erkannt. Migula[4]) hat den Urobacillus Pasteurii Miquel als Bacillus Pasteuri (Miquel) Migula in sein System eingereiht, und zwar auf Grund folgender „Beschreibung“: „Große Stäbchen, beweglich, sehr variabel in der Länge, in kurzen Ketten, Sporen endständig, kugelig. Wächst nur in Nährböden mit Harnstoff oder Ammoniakgehalt. Zersetzt Harnstoff“ (!). Die betreffenden Angaben von Miquel[5]) und Beijerinck[6]) sind zwar etwas vollständiger; der Arbeit des letztgenannten Autors sind auch sehr gute Abbildungen beigegeben, immerhin dürfte eine vollständige Beschreibung dieses kräftigsten Harnstoffzersetzers an dieser Stelle nicht unangebracht sein. Denn eine ziemlich bedeutende Variabilität im kulturellen Verhalten erschwert die sichere Erkennung dieser Art nicht unwesentlich, die auch durch die wohl zuweilen, aber keineswegs regelmäßig auftretende Kristallbildung[7]) leider nicht sicherer gemacht wird.

Bac. Pasteuri (Miquel) Migula.

Form: Meist schlanke Stäbchen mit abgerundeten Polen, seltener Clostridium-artige Formen. Vorwiegend einzeln oder zu zweien, seltener in Fäden.

1) Vgl. Löhnis und Parr, l. c. Bd. XVII. p. 522.

2) Beijerinck, l. c. Bd. VII. p. 41.

3) Daß indessen auch diese Regel ihre Ausnahmen hat, zeigten mir spätere, mit Erde durchgeführte, l. c. Bd. XIV. p. 721 beschriebene Versuche.

4) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 726.

5) Miquel, in Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. III. p. 77.

6) Beijerinck, l. c. Bd. VII. p. 44.

7) Ich habe im Anschluß an Beijerinck schon vor einigen Jahren (l. c. Bd. XIV. p. 98) darauf hingewiesen, daß die von Miquel vertretene Ansicht von dem hohen diagnostischen Wert der Kristallbildung unrichtig ist. In der neuen (4.) Auflage von Lehmann und Neumanns Diagnostik (p. 66) ist diese irreführende Angabe leider nicht abgeändert worden.

Größe: Lebend 1 μ dick, 2—4 μ lang (letzteres, wenn Doppelstäbchen vorhanden), wenn Fadenbildung bis 30 μ; gefärbt 1—1,25 μ breit, 1,5—2,5 μ lang.

Beweglichkeit: Lebhaft, in älteren Kulturen abnehmend. Begeißelung peritrich. Ziemlich lange, feine Geißeln, 4—6 und mehr.

Färbbarkeit nach Gram: positiv.

Sporenbildung vorhanden. Sporen kugelig, meist einem Ende genähert, doch nicht ausgesprochen endständig, Clostridienformen nicht selten.

Harnstoffgelatineplatte: Zwei Typen von Oberflächenkolonieen[1]. A. Wenn von Anfang an der Oberfläche, makroskopisch weißgraue, feuchtglänzende, runde Knöpfchen, langsam wachsend (nach 8 Tagen 3 mm Durchmesser); mikroskopisch ganzrandig, nur stellenweise schwach eingebuchtet, weißgrau, Mitte gelblich, Rand durchscheinend, körnige Struktur, keine Rillen. — B. Wenn aus Tiefenkolonieen hervorgegangen, makroskopisch zunächst klein, gelblich, breiten sich zu durchscheinenden Häutchen aus, vergrößern sich ziemlich rasch (nach 6 Tagen 5 mm, nach einem Monat, wenn nicht im Wachstum gehemmt, 1—2 cm Durchmesser); mikroskopisch blattartig, mit unregelmäßig gelapptem Rand, weißlichgelb, durchscheinend, mitunter bläulich irisierend, Centrum dunkler, körnige Struktur, Risse und Rillen, die vorwiegend radial verlaufen (Aussehen erinnert sehr an Typhus). — Beide Arten von Oberflächenkolonieen sinken bald früher, bald später ein, werden hierdurch konkav, in welchem Falle bei mikroskopischer Betrachtung gelegentlich bei Typus A am Rande der Kolonie eine feine Strahlung, an Bac. subtilis erinnernd, wahrgenommen werden konnte. Nach eingetretener Verflüssigung der Gelatine macht sich am Rande der Kolonie (bei enger Blendenstellung) ein feines Lockengewirr bemerklich. Die äußeren „Haare" sind ziemlich gut isolierte Bakterienfäden. Alte, mehrmals übergeimpfte Stämme verlieren oft ihr Gelatineverflüssigungsvermögen[2]. — Die Tiefenkolonieen sind gleichfalls sehr variabel. Makroskopisch meist kleine, gelbliche, rötliche oder (am häufigsten) bräunliche Punkte, selten weißlich erscheinend; 1—2 mm Durchmesser. Entweder kreisrund oder schräg aufwärts gestellte Linse, zuweilen zugespitzt, elliptisch. Mikroskopisch gelbbraune Scheiben mit eigentümlich buckeligem Rand. — In seltenen Fällen behalten die aus der Tiefe an die Oberfläche emporwachsenden Kolonieen auch dort ihre dunklere (braune) Farbe bei. Sie sinken dann nur konkav ein, Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt.

Harnstoffgelatinestichkultur: Gleichfalls 2 Typen (bei demselben Stamm wechselnd. A. Feiner, milchig-grauer Stich, fein gekörnt, ohne besondere Eigenschaften. Gut entwickelt bis zum Boden. Nach ca. 6 Tagen kleine Auflage, weißglänzend, sinkt nach einigen Wochen ein (scharf ausgestochenes Loch). Im Stich Kristalle. Später übergehend in Typus B. — B. Entweder von Anfang an oder aus Typus A hervorgehend. Kräftiger, weißgelber, bis zum Boden reichender Faden, früher oder später, namentlich am unteren Ende, fein bis grob gekörnt. Kleine, weiße, porzellanartige Knöpfchenauflage, später etwas einsinkend. — Verflüssigung langsam, selbst bei alten Kulturen den Boden oft nicht erreichend. Kann auch ganz ausbleiben. Kristalle fehlen oft.

Harnstoffagarstrich: Auch hier 2 Wuchsformen. Typus A geht meist in B über, seltener bleibt er bestehen. Typus B entwickelt sich oft von Anfang an. A. Durchsichtiger, sehr dünner, farbloser Belag, in den feuchten Partieen nicht besser wachsend, wenig weißlicher Bodensatz im Kondenswasser. Später eventuell in B übergehend. — B. Mäßig breiter, weißgelblicher, feuchtglänzender, etwas erhabener Belag, in dem unteren feuchteren Teile besser wachsend. Etwas weißgelblicher Bodensatz im Kondenswasser. Kristalle entweder vorhanden oder fehlend.

Harnstoffbouillon: Geringe Trübung, Entbindung von Ammoniak.

Wachstum auf harnstofffreien Nährböden: Auf Fleischgelatine und Fleischagar fast nie Wachstum, selten äußerst geringe, milchig-graue Entwickelung. Kein Wachstum auf Bouillon, Milch, Kartoffeln und den von A. Fischer[3] vorgeschlagenen Peptonzucker-, Peptonsalpeter-, Asparagin-, Ammonglycerin- oder Salpeterglycerinlösungen.

Die Prüfung der Wirksamkeit der isolierten Stämme wurde analog dem bei der Peptonzersetzung innegehaltenen Verfahren durch Einimpfung bezw. wiederholte Ueberimpfung der Reinkulturen in 10-proz. Harnstoffbouillon bewirkt. Nach je einer Woche wurde das vorhandene Ammoniak durch Titration ermittelt. Zur Ergänzung wurden außer dem

1) Der von Beijerinck stammende, von Král bezogene Urobacillus Pasteuri zeigte dasselbe Verhalten.
2) Vgl. Beijerinck, l. c. p. 45.
3) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903. p. 94. 95.

aus Králs Sammlung stammenden Urobacillus Pasteurii noch Urobacillus Leubei, Urob. Miqueli sowie Urococcus ureae (gleicher Herkunft) herangezogen. Für die 3 letztgenannten schwächeren Harnstoffzersetzer wurde von der 3. Abimpfung an, ebenso wie für den aus dem Dünger isolierten Micrococcus ureae liquefaciens, für die eine Parallelreihe (a) 5-proz. statt wie sonst 10-proz. Harnstoffbouillon verwendet. In der 4. Abimpfung wurde die eine Parallelreihe der relativ schwach spaltenden Pasteuri-Stämme im Brutschrank bei 37° gehalten, die für die betreffenden Gläser ermittelten Zahlen sind in ( ) eingeschlossen. Zur Neutralisation je eines Kubikcentimeters Harnstoffbouillon sind an $\frac{n}{10}$-Schwefelsäure erforderlich (steril 0,8—0,9):

	1.		2.		3.		4.		5.	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Bac. Pasteuri, Stamm Král	29,0	29,4	28,0	28,4	28,3	28,5	23,0	24,4	23,8	24,5
„ „ [1]) Stamm A 1	9,3	11,6	10,7	14,1	8,0	9,1	(1,1)	4,1	8,2	8,0
„ „ „ A 2	12,3	12,0	15,0	17,7	4,5	4,0	(2,1)	13,4	1,4	7,7
„ „ „ A 4a	28,4	28,8	27,2	27,8	27,6	27,3	21,3	24,4	24,0	25,0
„ „ „ A 4b	28,0	28,2	27,1	27,3	27,4	27,2	27,3	26,3	24,0	23,8
„ „ „ A 5	10,8	11,0	14,2	14,2	11,5	9,9	(1,2)	14,2	1,3	11,7
„ „ „ A 6	3,5	3,5	3,8	3,6	3,0	3,6	(1,7)	10,0	11,5	10,2
„ „ „ B 1a	28,2	29,0	27,5	28,9	25,0	28,2	27,1	26,0	23,6	24,0
„ „ „ B 2	27,0	27,3	28,1	28,5	23,5	26,0	22,7	25,9	21,2	22,3
„ „ „ B 3	14,2	14,2	16,0	13,8	9,8	7,8	(0,9)	7,1	1,3	7,5
„ „ „ B 4	28,4	28,9	27,7	27,6	27,2	28,9	27,8	28,8	24,0	24,2
„ „ „ B 5	8,2	11,9	15,0	14,5	10,0	6,0	(0,9)	4,9	1,0	10,0
„ „ „ B 6	14,5	12,3	15,2	14,4	9,0	8,7	(0,9)	12,7	0,9	13,3
Urobacillus Leubei (Král)	1,2	1,2	4,5	1,2	6.6	1,0	6,1	1,0	8,3	4,9
„ Miquelii (Král)	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9
Urococcus ureae (Král)	1,2	1,0	0,9	0,9	1,2	1,2	0,9	1,0	1,3	0,9
Micrococcus pyogenes γ albus	1,1	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	0,9

Der Berechnung nach hätten (auf Grund der Angaben Miquels und Beijerincks) gebunden werden müssen: von Urob. Pasteurii ca. 33 ccm, von Urob. Leubei 8,6 ccm, von Urob. Miquelii sowie von Urococcus ureae je 4,3 ccm Säure. Die erlangten Befunde lassen aber erkennen, daß auch bei Stämmen, die in ihrem morphologischen wie kulturellen Verhalten durchaus den Charakter des Bac. Pasteuri aufweisen, die Befähigung zur Harnstoffspaltung mitunter recht gering werden kann [2]), insbesondere erlahmte sie vollständig, als die schwach harnstoffspaltenden Stämme bei 37° gehalten wurden. Urob. Leubei gewann erst allmählich, bei wiederholter Uebertragung in 5-proz. Harnstoffbouillon seine volle Aktivität wieder. Dagegen blieben die 3 anderen geprüften Arten fast vollständig wirkungslos, wobei allerdings auf Grund von späteren Beobachtungen [3]) dahin gestellt bleiben muß, ob sie nicht doch in Harnstofflösungen von noch geringerer Konzentration eine deutlich wahrnehmbare Wirkung hätten ausüben können.

Die zur Bestimmung der Denitrifikation benutzte Giltay-Lösung lieferte 11 Bakterienstämme und eine Streptothrix-Art. Die letztere dürfte als identisch mit Streptothrix aurantiaca Rossi-Doria

1) Die oben angegebenen Journalbezeichnungen umfassen unter dem Buchstaben A die Stämme aus dem nicht konservierten, unter B die aus dem konservierten Dünger.

2) Daß überhaupt in keinem Falle die berechnete Säuremenge vollständig zur Titration verbraucht wurde, dürfte lediglich auf die bei der hier innegehaltenen Versuchsanordnung unvermeidliche Ammoniakverdunstung zurückzuführen sein.

3) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 396f.

anzusehen sein. Von den isolierten Bakterien erwiesen sich bei näherer Prüfung zunächst zwei als Bact. putidum, je ein Stamm als Bac. mesentericus, Bac. rosaceus margarinicus Jolles et Winkler, Bact. coli, Bact. helvolum, Bact. lactericiüm bezw. Micrococcus (Karphococcus) pituitoparus Hohl. Alle diese Arten waren wohl in geringem Grade zur Salpeterassimilation, nicht aber zur Denitrifikation befähigt. Weiter wurden zwei einander sehr nahestehende Formen gefunden, von denen sich die eine als der Erreger des Denitrifikationsvorganges, und zwar als Bac. denitrificans agilis Ampola et Garino erwies, während es sich bei der anderen um eine nicht denitrifizierende Varietät derselben Art zu handeln schien. Wurde von der wirksamen Reinkultur in Giltay-Lösung übergeimpft, so zeigte sich eine relativ schwache und schwankende Befähigung zur Auslösung des Denitrifikationsvorganges. Dr. Kuntze hat schon vor einigen Jahren in diesem Centralblatt[1]) darüber Bericht erstattet, in welcher Weise er bei seinen Isolierungsversuchen schließlich zum Ziele gelangte, nachdem mancherlei Schwierigkeiten zu überwinden waren. An jener Stelle wurde auch bereits mitgeteilt, daß neben dem Bac. denitrificans agilis, der seit seiner Entdeckung durch Ampola und Garino nicht wieder im Dünger nachgewiesen worden war, auch der bisher gleichfalls wohl nur einmal isolierte Bac. oxalaticus von neuem aufgefunden werden konnte.

Wurde statt der Giltay-Lösung eine Glycerin-Salpeterlösung verwendet, die mir später bei meinen Untersuchungen über die salpeterassimilierenden Bakterien gute Dienste leistete, so stellte sich außerdem eine braune Varietät des Bact. fluorescens ein, das Gegenstück zu jener oben besprochenen, braunen, nicht verflüssigenden Form aus der Peptonlösung. Dieser braune, verflüssigende Fluoreszenz zeigte bei der Fortzüchtung auf Fleischagar im Laufe der Jahre ein bemerkenswertes Verhalten. Während er nach der Isolierung das Agar tiefbraun verfärbte, verminderte sich späterhin die Intensität der Farbstoffbildung, bis der Stamm schließlich (etwa 2 Jahre nach der Isolierung) fast farblos wuchs. Die nächste Abimpfung verursachte lebhafte, grüne Fluoreszenz des Substrates, erwies sich also als typisches Bact. fluorescens. Später ging jedoch die Verfärbung wieder in Braun über, und dabei blieb es bei den weiteren Uebertragungen[2]).

Schließlich wurde noch versucht, die an der Cellulosezersetzung beteiligten Organismen zu gewinnen, was indessen nicht gelang. Wie oben bereits mitgeteilt wurde, verlief schon in den Rohkulturen die Zersetzung sehr langsam und unregelmäßig, wonach zu schließen war, daß in dem Dünger nur noch wenig lebensfähige Cellulosezersetzer vorhanden waren. Die sowohl unter aëroben wie unter anaëroben Bedingungen vorgenommenen, auf die Gewinnung einer Reinkultur gerichteten Abimpfungen blieben ohne Erfolg; nie fand in ihnen auch nur eine geringfügige Zersetzung der eingebrachten Cellulose statt.

Leipzig, Januar 1908.

---

1) Kuntze, l. c. Bd. XIII. p. 1.

2) Nachträglich sei hierzu bemerkt, daß wir neuerdings Gelegenheit hatten, ein ähnliches Verhalten auch bei zwei Stämmen von Bact. punctatum und annulatum zu beobachten. Nach den Angaben von Lehmann und Neumann (Diagnostik. 4. Aufl. p. 349) handelt es sich bei diesen Arten um farblose Parallelformen von Bact. fluorescens; bei fortgesetzter Kultur war zuweilen schwache Fluorescenz zu konstatieren. Unsere beiden Stämme wuchsen 1 Jahr lang auf Fleischagar ohne jede Farbstoffbildung, jetzt färben sie das (stets in derselben Weise hergestellte) Agar tiefbraun, fast schwarz.

The solvent action of soil bacteria upon the insoluble phosphates of raw bone meal and natural raw rock phosphate.*

By **Walter G. Sackett, Andrew J. Patten, Charles W. Brown,**
Laboratory of Bacteriology and Hygiene, Michigan Agricultural College, East Lansing, Michigan, U. S. A.

Of the many complicated questions which have claimed the almost undivided attention of the soil chemist and the soil bacteriologist during the past twenty-five years, the relation of microorganisms to the nitrogen of the soil stands paramount. Why this element should have received more than its share of consideration is without doubt due to the fact that it has been looked upon as of more importance than other plant foods, not only because of the recognized dependence of the plant kingdom, but also because of its greater money value and the limited supply which at present seems to be a matter of no little concern. Our better understanding of ammonification, nitrification, denitrification, nitrogen assimilation and fixation, together with the scientific explanation of the processes involved in these changes, stand out as witnesses to the excellent work of investigators who have given their entire time to concentrated research along these special lines.

Within very recent years, a second plant food element has demanded recognition of the soil biologist, namely, phosphoric acid.

According to Wiley[1]) phosphorus exists in the soil in four forms:

"1) Phosphoric acid in phosphates.

2) Phosphoric acid in compound ethers similar to phosphoglycerates which dilute acids and alkalies decompose slowly with regeneration of phosphoric acid.

3) Mineral compounds of phosphorus of the order of phosphites which are resolved by oxidizing solutions like nitric acid with formation of phosphoric acid but which are only oxidized to this stage by the reagents employed after contact of indefinite length and uncertainty.

4) In the case of organic compounds of the order of the oxide of tri-ethylphosphine, phosphorated phenyl compounds and cerebric acid with extreme difficulty by the usual reagents employed in the wet way."

"The mineral deposits of phosphorus as well as bone, are chiefly tri-calcium phosphate while the slag compound resulting from the basic treatment of iron ores rich in phosphorus is a tetracalcium salt."

Again in the natural, raw rock phosphate, we find calcium, iron and aluminium combined with the phosphorus in the form of double salts.

It is with such compounds as these which are only slightly soluble in water and yet which are being used in the field quite generally and with success, as sources of phosphoric acid, that the present study is concerned. How are these insoluble compounds made soluble and thus rendered available for the use of plants? Are microorganisms in any way associated with this solvent action?

Soil chemistry, soil physics and soil bacteriology are all probably involved in the answer to such a question, since if microorganisms are to thrive in the soil, the proper physical conditions must be maintained. Again there are large numbers of inorganic and organic compounds including the weaker acids which have their origin in microbic fermen-

1) Wiley, Principles and practice of agricultural analysis. Vol. I. p. 460.

tations and which possess more or less solvent power. These are of interest to the soil chemist. Many such compounds, however, must be accounted for by the soil bacteriologist and naturally the problem shapes itself into a study of the solution of insoluble phosphates by soil bacteria, yeasts and molds either directly, on the one hand, or indirectly, on the other, by means of the solvents resulting from decomposition and fermentation.

Stoklasa[1]) has shown that when bone meal is employed as the insoluble phosphate, it has been possible to get as much as 21,56 per cent of available phosphoric acid by inoculating a nutrient solution, phosphorus free, with B. megatherium, to which 10 grams of finely ground bone meal had been added. The bone meal he used contained 19,8 per cent total phosphoric acid, 5,26 per cent nitrogen and 1,5 per cent fat, which is considerably lower in phosphoric acid and fat and higher in nitrogen than the average run of bone meal met with in this country. This may account for the marked difference between Stoklasa's results and those obtained in this laboratory. The following table taken from Stoklasa gives the results of his experiments based upon ten grams of bone and 900 c. c. of nutrient solution per flask inoculated with pure cultures and allowed to stand for 33 days.

Table 1.
Solvent action of pure cultures according to Stoklasa.

Inoculation	Grams P_2O_5 made soluble from 10 g. bone meal	Per cent of the total P_2O_5 made soluble
Not inoculated	0,067	3,83
B. megatherium	0,427	21,56
B. fluorescens liquefaciens	0,182	9,19
B. proteus vulgaris	0,293	14,79
B. butyricus (Hueppe)	0,308	15,55
B. mycoides	0,456	23,03
B. mesentericus vulgatus	0,408	20,60

Stoklasa explains the increased soluble phosphoric acid in the inoculated flasks as due to the proteolytic and diastatic enzymes incident to the bacterial growth acting upon the insoluble tri-calcium phosphate of the bone.

To determine the action of these same organisms in soil[2]), he employed large unglazed pots filled with ordinary field soil in which oats were planted as the test crop. To all but one of these, five grams of bone meal were added. In the remaining one, the phosphoric acid and the nitrogen of the bone were replaced by their respective equivalents in superphosphate of lime and sodium nitrate. In addition to the bone, $2^1/_2$ grams of glucose were added to some pots and the same amount of xylose to others while still other pots contained no sugar, the object being to determine whether the carbon dioxide resulting from the fermentation of these carbohydrates would exert an increased solvent action over the pots which contained no sugar. The pots were inoculated with 100 c. c. suspension of the different organisms employed, six

1) Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Knochenzersetzung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 526.)
2) Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Knochenzersetzung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 554.)

days before planting the oats. At the end of the growing period, the crop was harvested and separate weighings made of the grain and straw from each pot. Each series in the experiment contained ten pots and the results given are based upon the average of these then. The results follow:

Table 2.
Stoklasa's pot experiments.

Treatment of pots	Grain g	Straw g
Not inoculated. Bone meal	161,32	213,81
Not inoculated. Superphosphate and Chili saltpeter	213,98	260,13
B. megatherium. Bone meal without glucose	246,79	267,85
B. megatherium. Bone meal and glucose	285,88	306,11
B. megatherium. Bone meal and xylose	320,52	398,04
B. mesentericus vulgatus. Bone meal and glucose	283,21	353,77
B. mycoides. Bone meal and glucose	235,26	289,03
B. butyricus. Bone meal and glucose	230,79	285,99
B. fluorescens liquefaciens. Bone meal and glucose	165,26	272,26

By referring to table 2, it will be seen:

First, that in every case where the pots containing bone were inoculated there has been an increase in the crop over the uninoculated pots.

Second, the pots inoculated with B. megatherium to which glucose and xylose were added show an increase over the inoculated pot without sugar.

Third, all inoculated pots containing a carbohydrate, with the exception of the B. fluorescens liquefaciens series, gave a heavier yield than the B. megatherium pots with no carbohydrates. It seems unfortunate that control pots without the sugar were not prepared for each organism. Stoklasa attributes the greater weight of oats in the pots containing glucose and xylose to the carbon dioxide coming from the fermentation of these carbohydrates, acting upon the insoluble compounds of the bone and liberating phosphoric acid and nitrogen. This is undoubtedly an important factor in explaining the increased fertility providing all of the organisms experimented with are capable of producing carbon dioxide from the carbohydrates named, but it is probably not the only one to be considered, since in the presence of such quantities of organic matter as occur in the average field soil, we should expect to find abundant material which would give rise to dilute organic acids when acted upon by soil bacteria. These acids, tho weak, nevertheless cannot be disregarded in a question of solubility.

Koch and Kröber[1]) in their recent work have shown that a number of insoluble phosphates are rendered soluble by the acids formed by sewage and soil bacteria from dextrose. They have employed the same nutrient medium as that used by Stoklasa, except that varying amounts of dextrose have been added in some cases and dextrose with beef broth in others. In some cases raisin-must has been substituted. The technique of their experiment is for the most part similar to Stoklasa except that instead of using pure cultures for the inoculation, very small quantities of liquid manure, soil or potato skin have been employed in

1) Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten. (Fühlings Landwirtschaftl. Ztg. 1906. No. 7.)

the respective series. Bacteriological and chemical studies with bone meal, tri-calcium phosphate and Thomas slag showed that the bacteria with which the culture flask were inoculated, produced acids from the dextrose capable of rendering the above compounds soluble, but that when calcium carbonate was introduced along with the phosphate, there was no longer any solvent action, the acid having been neutralized by the calcium carbonate as fast as formed. From this they conclude that the conversion of the phosphate into a soluble form is a much simpler process than Stoklasa believes it to be, stating that it is due simply to the solvent action of the organic acids and carbonic acid gas produced in the soil by the bacteria, rather than to the action of enzymes. The following Table, No. 3, taken from their work will serve to give some idea of the nature and general plan of their experiment.

(See Table 3 p. 692.)

Investigations have been conducted along similar lines in this laboratory for the past two years, during which time more than five hundred different determinations have been made. Our purpose from the beginning has been to demonstrate quantitatively, if possible, the extent to which the tri-calcium phosphate of raw bone meal and the insoluble phosphate of natural raw rock phosphate are made soluble by soil bacteria rather than to attempt any explanation of the processes involved.

Preliminary discussion.

Knowing that the composition of a bacterial medium [1]) influences the physiological activities of the organisms grown in it, the first problem to confront us was, naturally, the kind of a medium to employ to secure the optimum results. This was met by taking several media differing principally in the form and amount of the nitrogen they contained.

The exact composition of each solution is given under the discussion of its particular series. To 4 grams of bone meal prepared as herein described, placed in a 1000 c. c. Florence flasks, 250 c. c. of the bacterial liquid were added. These flasks were then sterilized in flowing steam for one hour on three successive days. The usual sterilization for twenty to thirty minutes by the discontinuous method was found to be unsatisfactory, owing to the presence of a very resistant spore-forming organism found in the bone.

After the third sterilization, all the flasks of a series were inoculated in triplicate from twenty-four hour agar streak cultures and placed in a constant temperature room at 23 to 25^{0} C. All of the flasks were thoroly shaken once a week during the whole period of experimentation. Each series contained 33 flasks, three of each culture and three uninoculated controls. Each series, unless otherwise stated, was examined quantitatively for soluble phosphoric acid after 30, 60 and 90 days.

Where the phosphate rock was used in place of the bone, 4,5 grams were taken for each flasks, this amount being equivalent in phosphoric acid to that contained in 4 grams of bone.

Bacterial cultures.

The bacterial cultures used in our work were partly laboratory stock cultures and partly those isolated from agar plates made from a water suspension of garden soil. To the latter cultures have been assigned the laboratory numbers 1, 3, 4 (B. ramosus), 7, 8. The stock cultures

1) See p. 701.

Table 3 (Koch and Kröber)

Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Solution	250 c. c. nutrient solution [1]) + 5 grams dextrose + 2,5 grams bone meal												250 c. c. nutrient solution + 1 per cent beef extract + 1 gram $Ca_3(PO_4)_2$ + 5 grams dextrose						250 c. c. nutrient solution + 1 per cent beef extract + 1 gram Thomas meal + 5 grams dextrose					
Ca. added	without $CaCO_3$						2 grams $CaCO_3$						without $CaCO_3$						without $CaCO_3$					
Duration of inoculation	46 days												46 days						46 days					
Culture	Control	B. mycoides	Potato skin	0,012 grams soil	1/2 c. c. liquid manure	B. megatherium	Control	B. mycoides	Potato skin	0,012 grams soil	1/2 c. c. liquid manure	B. megatherium	Control	B. mycoides	Potato skin	0,012 grams soil	1/2 c. c. liquid manure	B. megatherium	Control	B. mycoides	Potato skin	0,012 grams soil	1/2 c. c. liquid manure	B. megatherium
Grams P_2O_5 in 100 c. c. nutrient solution	0,017	0,025	0,037	0,07	0,186	—	0	0	0	0	0	0	0,072	0,079	0,102	0,196	0,201	—	0,047	0,047	0,052	0,058	0,09	—
Grams P_2O_5 made soluble by bacteria	—	0,008	0,02	0,053	0,169	—	0	0	0	0	0	0	—	0,007	0,03	0,124	0,129	—	—	0	0,005	0,011	0,043	—

1) Stoklasa's medium:

Distilled water	9000 c. c.	$MgCl_2$	0,5 grams
K_2SO_4	1 gram	$FeSO_4$	0,1 „

were B. subtilis, B. mycoides, B. proteus vulgaris and B. coli communis.

Bone meal.

The bone meal which furnished the tri-calcium phosphate was obtained from Swift & Co., Chicago, Ills., and was known as medium pure raw bone meal. It contained:

25,5	per cent	total P_2O_5
3,05	„ „	nitrogen
1,9	„ „	fat

The bone was first sifted thru a soil sieve of the following sized meshes: 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 m. m. in the clear. The grade passed by the 1,0 m. m. mesh but retained by the 0,5 m. m. mesh was used, the other being discarded after screening. The following method was employed for removing the dry blood and waste soluble matter from the bone.

1) About 300 grams of the screened bone meal were steamed for two hours in one liter of a 0,5 per cent salt solution using distilled water and chemically pure sodium chloride.

2) Cold tap water was then added, the contents of the vessel stirred thoroly and allowed to settle when the top scum and the suspended blood particles were poured off from the surface. This washing was repeated from six to eight times, or until the bone was clean and white and free from all dark colored particles.

3) It was then transferred to a porcelain evaporating dish and dried over a water bath with frequent stirring when it was ready for use.

Rock phosphate.

The rock phosphate was obtained in a finely ground condition from the South Carolina Mining and Manufacturing Co., Nashville, Tenn., and a chemical analysis showed it to contain:

Insoluble material	17,22	per cent
CaO	35,10	„ „
Al_2O_3	5,56	„ „
Fe_2O_3	4,78	„ „
P_2O_5	26,72	„ „

Analytical methods.

On the specified dates, the flasks were taken to the chemical laboratory, the solutions filtered and made up to the volume of 500 c. c., from which duplicate samples of 200 c. c. each were taken for analysis.

The filtering of the solutions was accomplished at first with no little difficulty. Owing to the sliminess of many of the solutions, due to bacterial growths, filtering thru paper was practically an impossibility, and it was only after the following scheme was devised, that this part of the operation was performed satisfactorily. A four-inch Buchner filter was used with a thick pad of long fiber asbestos as the filtering medium. Thru this the solution passed quite rapidly, at the same time retaining the finest particles of the bone and phosphate rock.

The digestion of the solutions was conducted as follows: Ten cubic centimeters of concentrated sulphuric acid were added to each flask, and after the excess of water had been driven off by boiling, small quantities of concentrated nitric acid were added from time to time until the solutions were colorless.

The phosphoric acid was then determined according to the gravimetric method adopted by the Association of Official Agricultural Chemists.

Discussion and details of the experiments.

Series I.

The nutrient solution used in series I contained its nitrogen in the form of asparagin and had the following composition:

Asparagin	5,0 grams
Sodium chloride	1,0 „
Potassium sulphate	1,0 „
Ferrous sulphate	0,001 „
Distilled water	1000,0 c. c.

Germ No. 8 gave the largest amount of soluble phosphoric acid in this series, 1,19 per cent, while germ No. 1 produced the least, 0,51 per cent. Detailed results are shown in table 4.

Table 4.

Solvent action of pure cultures upon bone in asparagin solution.

Nutrient solution: 250 c. c. asparagin solution + 4 grams bone meal[1]).

Culture used for the inoculation	Sterile control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 30 days	4,8	6,5	6,8	7,5	14,0	5,3	10,3	12,5	10,0	9,0	12,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	4,5	9,5	9,5	10,8	13,5	11,5	10,5	11,5	7,3	16,0	13,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 90 days	3,8	10,0	13,8	10,8	11,3	11,8	18,3	10,3	10,8	14,3	12,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 30 days		1,7	2,0	2,7	9,2	0,5	5,5	7,7	5,2	4,2	7,2
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		5,0	5,0	6,3	9,0	7,0	6,0	7,0	2,8	11,5	9,3
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 90 days		6,2	10,0	7,0	7,5	8,0	14,5	6,5	7,0	10,5	8,7
Maximum per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		0,51	0,83	0,58	0,76	0,66	1,19	0,63	0,58	0,95	0.77

Series II.

The nutrient solution used in Series II contained its nitrogen in the form of peptone and had the following composition:

Peptone	5,0 grams
Sodium chloride	1,0 „
Potassium sulphate	1,0 „
Ferrous sulphate	0,001 „
Distilled water	1000 c. c.

Germ No. 8 gave the largest amount of soluble phosphoric acid in this series, 0,82 per cent, while B. coli communis produced the least, 0,12 per cent. While eight of the cultures shown in this series indicate a progressive solution, there are two others which seem to point to a reversion of the soluble salt after 60 days to the insoluble form at the

1) The bone meal used in series I, II and III contained 30,32 per cent total P_2O_5; all other series 25,5 per cent.

end of 90 days. Thruout the series there is a considerable fluctuation in the results due either to an apparent reversion or to error in chemical determinations, the quantities in many of the analyses being so exceedingly small as to be overbalanced by the personal equation. Detailed results are given in table 5.

Table 5.

Solvent action of pure cultures upon bone in peptone solution.

Nutrient solution: 250 c. c. peptone solution + 4 grams bone meal.

Culture used for the inoculation	Sterile Control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 30 days	2,5	5,0	4,5	2,8	4,3	6,0	5,8	3,0	7,8	4,0	4,3
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	2,5	5,8	9,5	7,0	7,5	6,0	11,0	4,0	6,3	6,8	4,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 90 days	3,5	9,0	7,8	8,2	8,3	6,8	13,5	4,3	7,8	11,0	9,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 30 days		2,5	2,0	0,3	1,8	3,5	3,2	0,5	5,3	1,5	1,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		3,3	7,0	4,5	5,0	3,5	8,5	1,5	3,8	4,3	2,3
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 90 days		5,5	4,3	4,7	4,8	3,3	10,0	0,8	4,3	7,5	6,3
Maximum per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		0,45	0,57	0,39	0,41	0,29	0,82	0,12	0,44	0,62	0,52

Series III.

The nutrient solution used in Series III contained its nitrogen in the form of beef extract and peptone and had the following composition:

Beef broth.

Beef extract (Liebig)	3,0 grams
Peptone (Witte)	10,0 „
Sodium chloride	5,0 „
Distilled water	1000 c. c.

Germ No. 8 gave the largest amount of soluble phosphoric acid in this series, 0,82 per cent, while B. subtilis produced the least, 0,09 per cent. On the whole this series shows the least solvent action of any. A possible explanation of this may be found in the fact that the beef broth being a better nutrient than either of the two preceeding solutions, the germs have grown very vigorously at the start and have set free in the solution such quantities of decomposition products that the solution has become "auto-toxic", so to speak, for the culture. The vitality of the organisms thus lowered, their solvent action is reduced in proportion. Furthermore, it would seem from the negative results obtained on the thirty day analyses, that these decomposition products have exerted a decided reverting action upon the water soluble phosphates since in all but three cultures, the water soluble phosphoric acid after thirty days was less than in the sterile control. The detailed analyses are shown in Table 6.

Table 6.

Solvent action of pure cultures upon bone in beef broth.

Nutrient solution: 250 c. c. beef broth + 4 grams bone meal.

Culture used for the inoculation	Sterile control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 30 days	7,5	4,3	5,3	3,8	7,5	6,0	10,3	2,8	6,3	5,5	8,3
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	7,5	7,8	9,5	8,8	11,0	9,0	16,5	5,3	9,0	12,0	7,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 90 days	8,3	10,8	15,5	8,3	11,3	9,5	18,3	8,5	6,8	15,3	9,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 30 days		—	—	—	—	—	2,8	—	—	—	0,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		0,3	2,0	1,3	3,5	1,5	9,0	2,2	1,5	4,5	0,3
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 90 days		2,5	7,2	—	3,0	1,2	10,0	0,2	—	7,0	1,2
Maximum per cent P_2O_5 made soluble by the bacteria		0,21	0,59	0,11	0,21	0,12	0,82	0,18	0,12	0,58	0,09

Series IV.

Series IV is in all respects like series I except that the bone meal has been replaced by its phosphoric acid equivalent in finely ground raw rock phosphate. Here the solvent action has been so slight as to be practically negligible, the maximum amount of phosphoric acid made soluble being 0,3 per cent by B. subtilis as against 1,19 per cent by germ No. 8 in the corresponding bone series. It may be noted further that the minimum amount of soluble P_2O_5 in the bone series, 0,51 per cent, is considerably larger than the maximum, 0,3 per cent, for the phosphate rock. The detailed analyses are given in table 7.

Table 7.

Solvent action of pure cultures upon phosphate rock in asparagin solution.

Nutrient solution: Asparagin solution + 4,5 grams phosphate rock.

Culture used for the inoculation	Sterile control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	7,8	8,3	8,8	10,5	9,0	5,3	9,5	7,3	8,3	7,0	11,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 90 days	8,3	10,8	9,5	10,3	8,8	3,3	7,0	8,8	6,0	5,3	8,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		0,5	1,0	2,7	1,2	—	1,7	—	0,5	—	4,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 90 days		2,5	1,2	2,0	0,5	—	—	0,5	—	—	0,2
Maximum per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		0,21	0,1	0,23	0,1	—	0,14	0,04	0,04	—	0,3

Series V.

Series V is similar to series II except that the bone has been replaced by its equivalent in rock phosphate. The greatest action is shown by germ No. 6 giving 0,42 per cent soluble P_2O_5 as against 0,82 per cent by germ No. 8 in the corresponding bone series.

Not only is the amount of soluble phosphoric acid less here than in the bone series but the number of germs which show the solvent action is also fewer. The detailed analyses are given in table 8.

Table 8.
Solvent action of pure cultures upon phosphate rock in peptone solution.
Nutrient solution: 250 c. c. peptone solution + 4,5 grams phosphate rock.

Culture used for the inoculation	Sterile control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 30 days	5,0	2,3	2,3	2,0	3,8	4,3	4,3	3,5	2,3	8,8	6,6
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	4,8	3,8	6,5	6,0	9,8	5,0	5,8	5,0	5,3	6,5	6,8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 30 days		—	—	—	—	—	—	—	—	3,8	1,6
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		—	1,7	1,2	5,0	—	1,0	0,2	0,5	1,7	2,0
Maximum per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		—	0,14	0,1	0,42	—	0,08	0,016	0,04	0,32	0,16

Series VI.

Series VI is similar to series III except that the bone has been replaced by its P_2O_5 equivalent in finely ground phosphate rock. The maximum action is shown by germ No. 3, giving 0,46 per cent soluble P_2O_5, as against 0,82 per cent by germ No. 8 in the bone series. Four cultures have shown no solvent action whatever. Yet, while fewer germs have given evidence of dissolution in this series than in any other, it will be noted that the amount of P_2O_5 made soluble by germ No. 4, B. mycoides and B. subtilis is greater than the amount obtained by the corresponding germs on the bone. The detailed analyses are given in table 9 (see p. 698).

Series VII.

In series VII, we have attempted to duplicate Stoklasa's work by using the nutrient solution which he recommends and which has the following composition:

Distilled water	1000 c. c.
Potassium sulphate	1,0 gram
Magnesium chloride	0,5 „
Ferrous sulphate	0,1 „

100 c. c. of this stock solution were diluted with 800 c. c. of distilled water for each flask before use.

From the results shown in tables 4, 5, 6, 7, 8, 9, it will be seen that we have been unable to obtain anything like the quantities of phosphoric acid reported by Stoklasa. This has led us to follow up his

Table 9.
Solvent action of pure cultures upon phosphate rock in beef broth.
Nutrient solution: 250 c. c. beef broth + 4,5 grams phosphate rock.

Culture used for the inoculation	Sterile control	Germ No. 1	Germ No. 3	Germ No. 4	Germ No. 6	Germ No. 7	Germ No. 8	B. coli communis	B. mycoides	B. proteus vulgaris	B. subtilis
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 30 days	8,5	8,3	12,0	10,3	7,3	7,2	8,5	9,8	13,5	9,5	11,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 60 days	11,3	8,8	18,8	15,0	11,0	9,5	8,3	10,0	15,3	13,0	16,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 30 days		—	3,5	1,8	—	—	—	1,3	5,0	1,0	2,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria in 60 days		—	5,5	3,7	—	—	—	—	4,0	1,7	4,7
Maximum per cent P_2O_5 made soluble by the bacteria		—	0,46	0,31	—	—	—	0,11	0,42	0,14	0,39

work and repeat his flask experiments, using his special medium, the same organisms except for a possible difference in vigor due to attenuation but different bone meal. At the end of 33 days, determinations were made for soluble phosphoric acid but still we were unable even to approach his results. The largest amount of phosphoric acid rendered available in any of our experiments thus far cited was 1,19 per cent P_2O_5 by germ No. 8 in series I while the minimum quantity secured by Stoklasa was 9,19 per cent by B. fluorescens liquefaciens. From this we must conclude that under the conditions of the experiment, the bone, being the only variable, must have been responsible for the difference in results. Our determinations duplicating Stoklasa are given in table 10.

Table 10.
Solvent action of pure cultures upon bone in Stoklasa's medium.
Nutrient solution: 250 c.c. Stoklasa's medium + 10 grams bone meal.

Culture used for the inoculation	Sterile control	B. proteus vulgaris	B. ramosus	B. mycoides	B. megatherium	B. mesentericus vulgatus	Germ No. 8
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 33 days	18,5	20,7	19,4	18,9	31,0	22,5	22,1
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria after 33 days		2,2	0,9	0,4	12,6	4,0	3,6
Per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		0,086	0,035	0,016	0,5	0,16	0,14

While the actual amounts of phosphoric acid made soluble as shown in the foregoing tables covering series I to VII are in many cases so small as to be outweighed by the error in chemical determination, there are yet innumerable instances in which there is no question as to there being more soluble phosphoric acid in the inoculated flasks than in the un-

inoculated. There has been a gradual increase in the phosphoric acid made soluble with each period of chemical examination and this increase in nearly every case has been much greater than would result from mere water solution as shown by the uninoculated controls. In other words the action has been a slow progressive solution.

At no time during the experiment has there been any indication of an acid reaction in the flasks, which fact seems to point to some force at work other than simply acid as suggested by Koch and Kröber.

Satisfied then, from these experiments, that only very small quantities of insoluble phosphate could be made soluble without the intervention of an acid, our next step was to study the effect of some of the weaker acids upon bone meal as produced in vitro by bacterial fermentations.

Series VIII.

Lactic acid was the first one selected for our purpose since it could be obtained easily by inoculating sterile milk with a pure culture of the lactic organism. 250 c. c. of skimmed milk to which 4 grams of bone meal were added gave the basis for the experiment. After sterilization, one set of the flasks was inoculated with a pure culture of B. acidi lactici and the other set kept for sterile controls. At the end of fifteen days, chemical determinations were made yielding the results given in Table 11. 25,31 per cent of bone phosphate was rendered soluble in 15 days by the lactic acid present in the sour milk.

Table 11.
Solvent action of the lactic acid from sour milk.
Nutrient solution: 250 c. c. Milk + 4 grams bone meal.

Culture used for the inoculation	Sterile control	B. acidi lactici
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 15 days	318,8	557,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria and acid after 15 days		258,2
Per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		25,31

Duration of experiment 15 days.

Series IX.

Acetic acid as met with in the production of vinegar from beer wort was the second one studied. For this 250 c. c. of sterile wort containing 4 grams of bone meal were inoculated with a pure yeast, Saccharomyces cerevisiae, and the alcoholic fermentation was allowed to go on for three days at the end of which time a small piece of pure mother of vinegar was added to the flask. Acetic fermentation was set up at once and after fifteen days chemical determinations were made for the soluble phosphoric acid. The amounts found in the inoculated flasks and the uninoculated control are given in table 12.

Here again we see the marked action of the acid liberating 53,55 per cent of the total phosphoric acid.

There were probably small amounts of insoluble phosphate in both the milk and the wort which may have been acted upon by the acid present but these have not been taken into consideration and no correction has been made for them in reporting the soluble phosphoric acid as all derived from the bone meal.

Table 12.

Solvent action of acetic acid from beer wort.

Nutrient solution: 250 c. c. beer wort + 4 grams bone meal.

Cultures used for the inoculation	Sterile control	Yeast and Mycoderma aceti
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 15 days	118,3	664,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the bacteria and acid after 15 days		546,2
Per cent of P_2O_5 made soluble by the bacteria		53,55

Duration of experiment 15 days.

Series X and XI.

For comparison with the lactic and acetic acid as produced from milk and beer wort respectively, two more series were prepared containing these acids in chemically pure form but diluted with distilled water so that the strength approached that found in the fermentation. This was done for two reasons:

First, to find out whether the dilute acids would have the same solvent action by themselves as when accompanied by the micro-organisms and

Second, to see how readily the bone would give up its insoluble phosphate under the action of the dilute acids.

So far as these two experiments go, they seem to show that the dilute acids are equally as active and even more so than the acids produced by the microbic fermentations in series VIII and IX. It would be perfectly natural to expect this on account of the possible loose combination of the lactic acid with the casein of the milk on the one hand and the acetic with the wort constituents on the other. In five days the 5 per cent acetic acid had made available 75 per cent of the P_2O_5 while the acetic germ in fifteen days showed only 53,55 per cent, the acidity of the culture being a little less than 5 per cent. Again, the 1 per cent lactic acid gave 76,13 per cent soluble P_2O_5 in five days while the lactic culture in milk of about the same acidity gave only 23,31 per cent in fifteen days.

The details and results of these two Series are shown in tables 13 and 14.

Table 13.

Solvent action of dilute lactic acid.

Solution: 250 c. c. dilute lactic acid + 4 grams bone meal.

Strength of lactic acid used	0 per cent Control	0,05 per cent	0,1 per cent	0,5 per cent	1,0 per cent
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 5 days	5,0	10,5	37,0	218,0	781,5
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution made soluble by the acid after 5 days		5,5	32,0	213,0	776,5
Per cent of P_2O_5 made soluble by the acid		0,54	3,13	20,88	76,13

Duration of the Experiment 5 days.

Table 14.
Solvent action of dilute acetic acid.
Solution: 250 c. c. Dilute acetic acid + 4 grams bone meal.

Strength of acetic acid used	0 per cent Control	0,05 per cent	0,1 per cent	0,5 per cent	1,0 per cent	5,0 per cent
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 5 days	5,0	27,5	47,0	171,5	319,8	770,0
m. g. P_2O_5 in 250 c. c. of the solution after 5 days made soluble by the acid		27,0	42,0	166,5	314,8	765,0
Per cent of P_2O_5 made soluble by the acid		2,65	4,12	16,32	20,86	75,0

Duration of the Experiment 5 days.

Conclusions.

1) If it follows that the germs which produce the greater acidity in the medium give the most marked dissolution and that the solvent action occurs only in a medium in which there is a noticeable increase in the acidity, then we should say that the solvent is an acid or an acid compound produced by the bacterial growth.

2) But if there is a definite solvent action and no change in the acidity detectable, then we should say that the solvent action is not due entirely to acid compounds.

3) From all that we have gathered from our limited experiments, we are of the opinion that acid is not the sole solvent.

4) Certain soil bacteria under favorable conditions do have the power of converting small quantities of insoluble phosphates into a soluble form independent of acid formation.

5) When the bacterial growth is accompanied by acid formation, there is a decided solution of the insoluble phosphate.

The influence of the composition of the medium upon the solvent action.

When bacteria are isolated from the soil, it is obvious to say that we are cultivating them upon a medium somewhat different than the soil itself; but if we find that a certain soil bacterium, when grown upon culture media, is capable of dissolving insoluble phosphates, we may suspect that this germ, even while growing in the soil, does have the power of making phosphorus available to plants.

Several experiments have been carried on to determine the influence of the composition of the medium upon the solvent action of certain soil bacteria. The materials experimented upon were rock phosphate, bone meal, tri-calcium phosphate, di-calcium phosphate and calcium carbonate. After these minerals were finely ground, the powders were shaken up with water and those particles which remained in suspension for over half a minute were poured into a filter and washed with water. A little of the washed powder was put into a flask of medium and sterilized in live steam under 15 pounds pressure for fifteen minutes. The sterilized medium was allowed to cool to between 50° C and 60° C, then shaken to distribute the suspended particles equally. Plates were poured by using a sterile pipette to transfer about 8 c.c. of the medium to sterile Petri dishes. They were inoculated by a stroke on the surface of the solidified agar and placed in a constant temperature room at 22° to 23° C to wait developments. Here they were examined daily

for a visible solvent action which was made apparent by the suspended particles near the growth of the germ disappearing and the zone adjacent to the streak becoming clear and transparent. This is a crude quantitative method for detecting the solvent action of bacteria, but if a minute dissolution is to be discovered, a more sensitive method must be resorted to.

Ordinary nutrient agar was tried as a medium, but in no case was there a visible dissolution of any of the five minerals tried.

Nutrient agar containing 2 per cent dextrose was used. This time several of the germs showed an action upon the calcium carbonate and the di-calcium phosphate, but no visible action was seen on either the bone or the rock phosphate.

A synthetic agar medium composed of 0,02 per cent magnesium sulphate and ammonium sulphate respectively and 2 per cent agar in tap water was tried with and without sugars. Into the first set of plates was poured the synthetic medium alone; into the second set, the synthetic medium plus 4 per cent saccharose; into the third, the fourth and the fifth sets of plates was poured the synthetic medium plus 1 per cent, 2 per cent and 4 per cent of dextrose respectively. Not a germ was found which gave any visible action in the plates containing no sugar; but, in the presence of the 4 per cent saccharose, the 1 per cent, 2 per cent and the 4 per cent dextrose, some of the germs gave a marked action upon the calcium carbonate and the di-calcium and tri-calcium phosphates. Some even dissolved those suspended particles which were, in cases, two centimeters from the growth of the germ. As before, no definite action could be noticed upon the bone or rock phosphate. The solvent action of some germs seemed to be greater in the presence of the larger percentage of sugar, while that of others seemed to be as great with the 1 per cent as with the 4 per cent.

In order to get the cultural conditions more nearly like those existing in the soil, we used a medium composed of soil leechings with 2 per cent agar. No solvent action could be noticed. But when sugar was added to this medium, the action was about as marked as that with the synthetic medium described above.

Now, if we used meat infusion — one liter of water to 500 grams of beef — instead of the water in the synthetic medium, we found that the solvent action exerted by the bacteria was not nearly so great.

It might be interesting to note here that according to our experiments those germs which, in the presence of sugar, are the most active acid producers are also the germs which, in the presence of albuminoids and the absence of sugar, are the most active alkali producers. And again these active germs are the ones which have shown the greatest solvent action.

Thirty-six out of fifty different bacteria isolated from the soil were found to give a definite, visible solvent action. One of these which produces no gas from sugars, but a larger amount of acid than any of the others, shows the greatest action upon the calcium carbonate; while other germs which produce gas, largely carbon dioxide, but not as much acid as the former, give an action more marked than that of the stronger acid producers upon the di-calcium and tri-calcium phosphates. These points, with others noticed during the experiments, have led us to believe that, while acid is an important factor in dissolving insoluble phosphates, the carbon dioxide liberated from the carbohydrates by the gas producing bacteria must not be overlooked as a solvent agent.

This agar plate method for determining the solvent action of different organisms, while only in a measure quantitative, has proven to be a very useful one in our studies with calcium carbonate, di-calcium and tri-calcium phosphates. However, with the more complex forms of the phosphate as met with in bone and phosphate rock, it has been unsatisfactory and has been found to be not sufficiently delicate to warrant our recommending it for general use with all insoluble compounds. The scheme commends itself especially where it is desired to determine in a rough way and in a short time the solvent action of a large number of microorganisms upon different media containing the insoluble compound in question.

Table 15 shows the relative number of soil bacteria giving a solvent action upon the secondary and tertiary calcium phosphates and calcium carbonate. The medium used was the synthetic agar containing 4 per cent saccharose. As the results with the bone and the rock phosphate are all negative, owing to the rough plate method employed in obtaining this data, they are omitted from the table.

Legend for Table 15:

+ means, definite solution.
? means, suspected solution.
— means, no solution noticeable.

Table 15.

Germ	$Ca_3(PO_4)_2$	$Ca_2H_2(PO_4)_2$	$CaCO_3$	Germ	$Ca_3(PO_4)_2$	$Ca_2H_2(PO_4)_2$	$CaCO_3$
A	—	+	+	Y	—	+	+
B	?	+	+	Z	—	—	—
C	—	—	—	1 A	—	+	?
D	—	—	—	1 B	+	+	+
E	—	—	—	1 C	—	+	+
F	—	—	—	1 D	+	+	+
G	—	+	+	1 E	—	+	+
H	—	—	—	1 F	+	+	+
I	—	+	+	1 G	—	?	?
J	—	—	—	1 H	—	?	?
K	+	+	+	1 I	+	+	+
L	—	—	—	1 J	—	+	+
M	—	+	+	1 K	—	+	+
N	—	—	—	1 L	—	—	—
O	—	—	—	1 M	—	+	+
P	+	+	+	1 N	—	+	+
Q	—	+	+	1 O	—	+	+
R	+	+	+	1 P	—	+	+
S	—	—	—	1 Q	—	+	?
T	+	+	+	1 R	—	—	+
U	+	+	+	1 S	—	+	+
V	?	+	+	1 T	—	+	+
W	+	+	+	1 U	?	+	+
X	—	—	+	1	+	+	+
4 H	+	+	+	2	+	+	+

In publishing the present work, the writers do it more as a preliminary report than as a finished product. We have had to feel our way rather blindly; many of the problems which have arisen have been fundamental and progress has been necessarily slow but when our more intensive investigations which we are now carrying on have been completed, we hope to be able to offer more definite data concerning the relation of bacterial fermentations to solvent action.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Sterilisierens auf Lösungen von Kalkstickstoff.

[Mitteilung aus der chemischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation an der Universität Jena.]

Von Dr. **Hubert Kappen**, I. Assistent.

Die Zersetzung von Kalkstickstofflösungen durch Bakterien ist zuerst von Löhnis[1]), nach diesem von Ashby[2]), Behrens[3]) und Ulpiani[4]) untersucht worden. Die Arbeit des erstgenannten Forschers ist die umfassendste, denn sie bezieht sich nicht nur auf die Umwandlungsfähigkeit des Kalkstickstoffes in Lösungen im allgemeinen, sondern sie sucht auch noch festzustellen, inwieweit sich die Fähigkeit eines Bodens oder vielmehr seiner Bakterien zur Kalkstickstoffumwandlung unter dem Einflusse klimatischer Faktoren und der Bodenbearbeitung verändert und welche Bakterien im besonderen zur Kalkstickstoffumwandlung befähigt sind.

Zunächst wies Löhnis bei seinen Untersuchungen nach, daß die mit 10 Proz. Boden in eine verdünnte Kalkstickstofflösung eingebrachten Bakterien ohne Zusatz organischer Nährstoffe keine nennenswerte Umsetzung des Calciumcyanamid-Stickstoffes in Ammoniak bewirkten; wurde aber einer Lösung, die 0,2 g Kalkstickstoff in 100 ccm und 0,05 g K_2HPO_4 enthielt, 0,01 g Traubenzucker und 0,01 g Asparagin zugesetzt, so wurde, wie ein mit allen Vorsichtsmaßregeln gegen Ammoniakverdunstung ausgeführter Versuch zeigte, der gesamte Stickstoff der Kalkstickstofflösung in Ammoniak übergeführt. Bei diesem Versuche, wie auch bei allen anderen arbeitete Löhnis mit sterilisierten Kalkstickstofflösungen; denn Vorversuche hatten ihm gezeigt, daß es für die Umwandlung des Kalkstickstoffes ganz gleichgültig war, ob sterilisierte oder nicht sterilisierte Lösungen zur Verwendung gelangten. Offenbar auf diese Vorversuche gestützt, glaubte Löhnis daher auch zu der Annahme berechtigt zu sein, daß das Sterilisieren der Kalkstickstofflösungen höchstens als ein Vorarbeiten für die zersetzende Tätigkeit der Bakterien betrachtet werden könne. Das war aber eine Schlußfolgerung, der ich auf Grund von Versuchen, die ich schon vor dem Erscheinen der Löhnisschen Arbeit über die Zersetzung von Kalkstickstofflösungen beim Erhitzen ausgeführt hatte, einige Zweifel entgegensetzen mußte. Es hatte sich nämlich bei diesen Versuchen herausgestellt, daß schon bei 40° eine Zersetzung der Kalkstickstofflösung unter Abscheidung von kristallisiertem Calciumhydroxyd und Bildung von Dicyandiamid eintrat. Diese Reaktion, die allerdings sehr langsam auch schon beim Stehenlassen von Kalkstickstofflösungen in geschlossenen Gefäßen in der Kälte vor sich geht, kann durch folgende Gleichung zum Ausdruck gebracht werden:

$$(CNNH)_2Ca + 2\,H_2O = (CNNH_2)_2 + Ca(OH)_2.$$

Ob hierbei die in der wässerigen Lösung des Kalkstickstoffes anfänglich vorhandene Verbindung $(CNNH)_2Ca$ sogleich Dicyandiamid oder erst Cyanamid entstehen läßt, konnte ich nicht zur Entscheidung bringen; für das Resultat war das ja aber auch von nur untergeordneter Be-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 87 und 389.
2) Journ. of Agric. Science. Bd. I. 1905. p. 358.
3) Jahresber. d. Großh. Bad. Landw. Versuchsanstalt Augustenburg. 1904.
4) Vortrag in einer Sitzung der Società chimica di Roma. 10. April 1906.

deutung, da bekanntlich das Cyanamid beim Erhitzen in alkalischer Lösung sehr schnell in Dicyandiamid übergeht.

Hatte ich nun auch bei der Untersuchung dieser in der Kalkstickstofflösung beim Erhitzen vor sich gehenden Zersetzung mit Lösungen gearbeitet, die wesentlich konzentrierter waren, als die von Löhnis zu seinen Versuchen benutzten, so konnte ich mir doch wohl nach der Feststellung dieses Zersetzungsvorganges die Schlußfolgerung erlauben, daß auch in den sterilisierten Lösungen von Löhnis wenigstens ein Teil des Calciumcyanamides in Dicyandiamid umgewandelt sein müßte. Denn die Abscheidung von Kalk hatte Löhnis beim Erhitzen seiner verdünnten Lösungen ebenfalls beobachtet und in der Einleitung zu seiner Arbeit zieht er auch die Möglichkeit der Bildung geringer Mengen Dicyandiamid als Folge des Sterilisierens in Erwägung. Wenn er nun trotzdem keinen weiteren Anstoß an dieser Veränderung der Kalkstickstofflösung nahm, so hängt das wohl — sofern ich nämlich seine Ausführungen am Schlusse der Einleitung zu seiner Arbeit richtig verstanden habe — mit seiner Annahme zusammen, daß auch im Boden die Umwandlung des Kalkstickstoffes über die Bildung von Dicyandiamid gehe. Wäre diese Annahme, die übrigens auch von zwei italienischen Forschern, Ulpiani und Perotti, geteilt wird, richtig, so müßte unbedingt auch in den Ackerboden eingebrachtes Dicyandiamid durch die Tätigkeit der Bakterien in Pflanzennahrung übergeführt werden. Das ist jedoch nach zahlreichen inzwischen ausgeführten Vegetationsversuchen mit Dicyandiamid nicht der Fall, und auch die Umsetzungsversuche unter Verwendung von Erde, die ich bei Untersuchungen über die „Umwandlung des Kalkstickstoffes und seiner Zersetzungsprodukte im Boden“ [1]) ausgeführt habe, zeigen deutlich, daß das Dicyandiamid von Bakterien im Boden so gut wie gar nicht in Ammoniak übergeführt wird. Daher kann denn auch die Zersetzung des Kalkstickstoffes im Ackerboden unmöglich über Dicyandiamid gehen.

Auf Grund dieser beiden Tatsachen, der Bildung von Dicyandiamid beim Erhitzen von Kalkstickstofflösungen und der Unzersetzbarkeit dieser Substanz im Ackerboden, nebst ihrer daraus sich ergebenden völligen Bedeutungslosigkeit für die Düngung mit Kalkstickstoff unter normalen Verhältnissen, kam ich daher schon damals zu der Ueberzeugung, daß die Arbeit von Löhnis eigentlich keine exakte Antwort auf die durch ihre Ueberschrift gekennzeichnete Fragestellung nach der Zersetzung des Kalkstickstoffes durch Bakterien gäbe; denn im günstigsten Falle, wenn nämlich die Wirkung des Sterilisierens nicht bis zur vollkommenen Zerstörung des Calciumcyanamides geführt hatte, konnten sich die Untersuchungen auf Gemische von Calciumcyanamid und Dicyandiamid beziehen, andernfalls ausschließlich auf die letztgenannte Verbindung und von dieser mußte ich dann annehmen, daß sie, im Gegensatze zu ihrem Verhalten im Boden, durch Bakterien in Nährlösung hätte zersetzbar sein müssen. Wie aber nun neuerdings von mir ausgeführte eingehendere Untersuchungen über die Zersetzung von Kalkstickstofflösungen beim Sterilisieren dargetan haben, kommen auch diese Verbindungen für die Ammoniakbildung in sterilisierten und dann mit Boden beimpften Kalkstickstofflösungen nicht mehr in Betracht; es handelt sich hierbei vielmehr um Substanzen, die mit den bei der Düngung mit Kalkstickstoff entstehenden Zersetzungsprodukten nichts mehr zu tun haben. Es harren

1) Fühlings Landw. Zeitung. Jahrg. LVI. Heft 4.

demnach auch die Fragen, die Löhnis sich in seiner gewiß mühevollen Arbeit zur Beantwortung gestellt hatte, in ihrem ganzen Umfange noch heute ihrer Erledigung.

Als ich nach einer längeren Unterbrechung meine Arbeiten über Kalkstickstoff wieder aufnahm, orientierte ich mich zunächst einmal über den Verlauf der Stickstoffumwandlung in erhitzten und nicht erhitzten Kalkstickstofflösungen. Zu dem Zwecke setzte ich eine Reihe von 250 ccm fassenden Kölbchen mit 100 ccm der von Löhnis angegebenen, allerdings ohne Verwendung von Bodenextrakt hergestellten Nährlösung an und wog in jedes Kölbchen 33 mg Stickstoff in Form von Kalkstickstoff ein. Schon hierbei geht natürlich sofort eine Veränderung in der Nährlösung vor sich, dadurch nämlich, daß das Dikaliumphosphat der Nährlösung mit dem zunächst aus dem zugefügten Kalkstickstoff sich bildenden Verbindung $(CNNH)_2Ca$ unter Ausfällung von Calciumphosphat und Bildung von CNNHK reagiert. Die Veränderung, die die Nährlösung durch diese Umsetzung erleidet, mag bezüglich der Ernährung und Wirkung der Bakterien vielleicht nebensächlich sein, wenn der durch die Kohle des Kalkstickstoffes schwarz gefärbte voluminöse Niederschlag in der Lösung verbleibt; wird aber dieser Niederschlag, dem auch noch ungelöst bleibendes Calciumhydroxyd aus dem Kalkstickstoff beigemischt ist, aus der Nährlösung entfernt, so werden, wie ich mich durch Ansetzen einer derart behandelten Reihe, deren Ergebnisse jedoch an einer anderen Stelle mitgeteilt werden sollen, überzeugte, wesentlich andere Bedingungen geschaffen. Von großer Bedeutung aber ist die Entfernung des Niederschlages und unlöslichen Rückstandes des Kalkstickstoffes auch noch, wie später darüber angeführte Zahlen darlegen werden, für den Verlauf der Zersetzung der Lösung beim Sterilisieren.

Nach Zusatz des Kalkstickstoffes wurde dann die Hälfte der Kölbchen durch einstündiges Erhitzen im Dampftopfe an drei aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert, wobei das in den Deckel des Dampftopfes eingesetzte Thermometer gleichmäßig eine Temperatur von 97° C anzeigte. Mit Absicht nahm ich das Sterilisieren zunächst in intensiverer Weise vor, als es Löhnis tat, und zwar deshalb, um die Zersetzung des Calciumcyanamides möglichst vollkommen zu machen und dadurch einen recht deutlichen Unterschied gegenüber dem Verhalten der Stickstoffverbindungen in der sterilisierten und nicht sterilisierten Reihe hervorzurufen. Zugleich mit diesen mit Kalkstickstoff beschickten Kölbchen wurde auch eine Serie mit Nährlösung und Dicyandiamid, ebenfalls 33 mg Stickstoff enthaltend, sterilisiert; denn da ich ja auf Grund meiner früheren Versuche die Bildung von Dicyandiamid beim Sterilisieren erwarten mußte, so erschien es notwendig, auch dieses auf seine Zersetzbarkeit durch Bakterien in Nährlösung zu prüfen. Die sterilisierten und nicht sterilisierten Kölbchen wurden schließlich mit 10 g von verschiedenen Bodenarten beimpft, die zum Teil auch zu Vegetationsversuchen mit Kalkstickstoff und seinen Zersetzungsprodukten dienen sollten oder gedient hatten und mir dadurch auch noch einige andere Anhaltpunkte zu liefern versprachen. 30 Tage lang blieben dann die Kölbchen bei gewöhnlicher Temperatur — der Versuch wurde am 15. August 1907 angesetzt und am 15. September beendigt — stehen; darauf wurde ihr gesamter Inhalt in Destillationsgefäße übergespült und mit 4 g MgO das gebildete Ammoniak in vorgelegte Schwefelsäure übergetrieben. Tabelle I enthält die Resultate, die sich bei dem Versuche mit Kalkstickstoff für die sterilisierte und nicht sterilisierte Reihe ergaben; die

den Ammoniakstickstoff in Milligrammen angebenden Zahlen sind Mittelwerte aus je 2 wenig voneinander abweichenden Bestimmungen.

Tabelle I.

Bodenarten	Sterilisierte Reihe. Kontrollkölbchen spalten 9,66 mg N ab		Nicht sterilisierte Reihe. Kontrollkölbchen spalten 1,57 mg N ab	
	Vor Abzug des N aus den Kontrollkölbchen	Nach Abzug des N aus den Kontrollkölbchen	Vor Abzug des N aus den Kontrollkölbchen	Nach Abzug des N aus den Kontrollkölbchen
Lehmboden frisch	20,28	10,62	11,12	9,95
Lehmboden lufttrocken	21,72	12,06	11,91	10,34
Sandboden mit Stallmist gedüngt	17,27	7,61	7,88	6,31
Sandboden ohne Stallmistdüngung	19,04	9,38	10,47	9,90
Komposterde	23,04	13,38	16,75	15,18
Niederungsmoor	24,17	14,51	9,16	7,99

Beim Vergleiche der in der Tabelle enthaltenen Zahlen fällt gleich der sehr große Unterschied zwischen den am Kopfe der Tabelle angegebenen Werten für die Stickstoffabspaltung aus den sterilisierten und nicht sterilisierten Kontrollkölbchen auf; fraglos muß man diese Bildung abspaltbaren Stickstoffes als das Resultat einer weitgehenden Zersetzung des Kalkstickstoffes infolge des Sterilisierens auffassen. Auch Löhnis hat schon dieses Verhalten der sterilisierten Kalkstickstofflösungen, welches sich entsprechend seiner weniger intensiven Sterilisationsweise allerdings weniger stark äußerte, beobachtet und es, worin man ihm nur beipflichten kann, auf die Entstehung freien Ammoniaks zurückgeführt. Zieht man nun aber die aus den Kontrollkölbchen abgespaltenen Stickstoffmengen von dem aus den mit 10 g Erde beimpften Kölbchen abgespaltenen Sticktoffe ab, so kommt man für beide Reihen zu gar nicht sehr abweichenden Resultaten. Die einzige Ausnahme machen dabei die mit Moorboden beimpften Kölbchen; hier bleibt der durch die eigentliche Bakterientätigkeit in den nicht sterilisierten Kölbchen gebildete Ammoniakstickstoff um 5–6 mg hinter dem in der sterilisierten Reihe gebildeten zurück. Aus dieser relativ guten Uebereinstimmung zwischen dem durch Bakterientätigkeit hervorgerufenen Stickstoffumsatze der sterilisierten und nicht sterilisierten Reihe erklärt es sich daher auch leicht, wie Löhnis bei seinen Versuchen zu dem Urteil gelangte, daß es für den Stickstoffumsatz gleichgültig sei, ob man mit sterilisierten oder nicht sterilisierten Kalkstickstofflösungen arbeite; ich selbst mußte aber im Banne meiner früheren Untersuchungen über die Zersetzung des Kalkstickstoffes beim Erhitzen seiner Lösungen auf Grund des vorliegenden Umsetzungsversuches zu der Annahme gelangen, daß dem beim Erhitzen entstandenen Dicyandiamid ziemlich die gleiche Zersetzlichkeit durch Bakterien in Nährlösung zukomme, wie dem Calciumcyanamid selbst. Den Beweis für die Richtigkeit dieses Schlusses erwartete ich von der Destillation der Kölbchen mit Nährlösung und Dicyandiamid, die ja gleichzeitig mit dem Kalkstickstoffversuche angesetzt waren. Bei der Untersuchung der Dicyandiamidreihe erfuhr ich aber eine starke Enttäuschung, denn es stellte sich heraus, daß in den Dicyandiamidkölbchen überhaupt keine Ammoniakbildung, selbst nicht nach 60 Tagen, eingetreten war. Die Ammoniakbildung in den sterilisierten und dann mit Boden beimpften Kalkstickstoffkölbchen konnte

deshalb auch nicht mehr mit der von mir festgestellten Dicyandiamidbildung direkt in Verbindung gebracht werden; da aber diese wenigstens primäre Bildung von Dicyandiamid aus Calciumcyanamid beim Erhitzen seiner Lösung nicht wegzuleugnen war, so mußten eben diejenigen Stickstoffverbindungen, die in den erhitzten Kölbchen mit Kalkstickstofflösung durch Bakterientätigkeit in Ammoniak umgewandelt waren, durch eine noch weitergehende, sich auf das Dicyandiamid erstreckende Zersetzung entstanden sein.

Als ich auf diesem Punkte meiner Untersuchungen angelangt war, stand ich, wofern ich sie überhaupt in exakter Weise weiterführen wollte, vor der Notwendigkeit, die Zersetzung des Dicyandiamides beim Erhitzen mit Calciumhydroxyd eingehend zu untersuchen, was sicherlich nicht ohne Aufwand von viel Zeit und Arbeit hätte geschehen können. Zum Glück fand ich aber schon beim Studium der Literatur über Dicyandiamid eine Arbeit, die ich für meine weiteren Untersuchungen direkt als Vorbild benutzen konnte.

Im Jahre 1870[1]) hat nämlich Hallwachs durch Kochen von Dicyandiamid mit Barytlauge Amidodicyansäure hergestellt. Kochte der Genannte z. B. 20 g Dicyandiamid mit einer nicht zu verdünnten Barytlauge, so war nach ca. 3 Stunden alles Dicyandiamid verschwunden; die Ausbeute an Amidodicyansäure war jedoch stets sehr klein, und das lag, wie Hallwachs weiterhin feststellen konnte, daran, daß die zuerst beim Kochen des Dicyandiamides mit Barytlauge entstehende Amidodicyansäure sich weiter zersetzte in Cyanamid und Cyansäure, von denen die erstere Verbindung zwar sofort wieder in Dicyandiamid zurückverwandelt wurde, die Cyansäure aber bei fortgesetztem Kochen sich in Ammoniak und Kohlensäure spaltete.

Diese Ergebnisse der Arbeit von Hallwachs hätten nun vielleicht ohne weiteres auf das Erhitzen von Dicyandiamid mit Aetzkalk und somit auch auf das Erhitzen von Kalkstickstofflösungen beim Sterlisieren angewandt werden können. Hallwachs betont jedoch die Verwendung von nicht zu verdünnter Barytlauge, und da doch beim Erhitzen mit Aetzkalk infolge seiner nur geringen Löslichkeit in Wasser stets nur eine ziemlich schwach alkalische Lösung zur Einwirkung gelangen kann, so hielt ich es für zweckmäßig, vor Uebertragung der Hallwachsschen Untersuchungsergebnisse auf das Erhitzen von Kalkstickstofflösungen das Verhalten des Dicyandiamides dem Aetzkalk gegenüber genauer festzustellen.

Deshalb löste ich in 4 Kölbchen von 250 ccm Inhalt je 5 g Dicyandiamid in Wasser auf, fügte bei einem Kölbchen zur Lösung 5,6 g Aetzkalk, bei einem zweiten die äquivalente Menge Bariumhydroxyd = 17,1 g und ließ die beiden übrigen ohne Zusatz. Von den bis zur Marke mit Wasser aufgefüllten Kölbchen wurden die beiden mit Calcium- und Bariumhydroxyd und eines derjenigen, die nur 5 g Dicyandiamid in Wasser gelöst enthielten, 5 Stunden lang hintereinander im Dampftopfe bei 97 ° erhitzt. Nach dem Erhitzen wurde der Inhalt aller 4 Kölbchen in 500 ccm-Kolben übergespült, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und mit gleichen Teilen dieser vier Lösungen folgende Untersuchungen angestellt:

1) Bestimmung des Gesamtstickstoffgehaltes,
2) Bestimmung des gebildeten Ammoniakstickstoffes,

1) Annalen der Chemie und Pharmazie. Bd. CLIII. 1870. p. 293.

3) quantitativer Nachweis der Amidodicyansäure und etwa entstandenen Cyanamides.

Die Resultate der Bestimmungen unter 1 und 2 sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.

Bezeichnung der Lösungen	Ges. N in einer 0,1 g Dicyandiamid entsprechenden Menge Lösung	NH_3-N in einer 0,1 g Dicyandiamid entsprechenden Menge Lösung
A. mit $Ba(OH)_2$ erhitzt	66,46 mg	17,05 mg
B. mit $Ca(OH)_2$ erhitzt	67,12 „	4,65 „
C. ohne Zusatz erhitzt	67,29 „	1,00 „
D. ohne Zusatz und nicht erhitzt	67,01 „	0,0

Für die chemische Untersuchung waren die vier Lösungen noch weiter verdünnt worden, indem 50 ccm der auf 500 ccm aufgefüllten, 5 g Dicyandiamid enthaltenden Lösung, für die Gesamtstickstoffbestimmung natürlich nach der Verbrennung mit Schwefelsäure, nochmals auf 500 ccm verdünnt und davon 100 ccm = 0,1 g Dicyandiamid zur Destillation benutzt wurden. Da nun 0,1 g Dicyandiamid 66,6 mg Stickstoff enthält, so erkennt man aus den Zahlen der Tabelle, daß ein Stickstoffverlust in keiner der drei sterilisierten bezw. erhitzten Lösungen eingetreten ist. Aus der Bestimmung des Ammoniaks geht hervor, daß die zersetzende Wirkung des Bariumhydroxydes um vieles größer ist, als die des Calciumhydroxydes; eine geringere Veränderung hat aber auch die erhitzte reine Dicyandiamidlösung erfahren, doch muß das aus derselben abdestillierte Ammoniak sich erst bei der Destillation selbst gebildet haben, da die Lösung nach dem Erhitzen im Dampftopfe keine Reaktion mit Nesslers Reagenz auf Ammoniak gab.

Zur weiteren Untersuchung der durch das Erhitzen gebildeten Zersetzungsprodukte des Dicyandiamides untersuchte ich zunächst die durch Einleiten von Kohlensäure und darauf folgendes Erwärmen von ihrem Kalk- und Barytgehalte befreiten Lösungen mikroskopisch, nachdem ich einen Tropfen davon auf Objektträgern langsam hatte verdunsten lassen. Die Rückstände der nicht erhitzten und der erhitzten reinen Dicyandiamidlösungen bestanden danach ausschließlich aus den leicht erkennbaren Kristallen von Dicyandiamid, die mit $Ca(OH)_2$ behandelte Dicyandiamidlösung wies noch neben vorherrschenden Dicyandiamidkristallen eine zweite, undeutlich kristallisierte, aber ebenfalls doppelbrechende Substanz auf, bei der mit $Ba(OH)_2$ erhitzten Lösung ließen sich nur noch am Rande des verdunsteten Tropfens geringe Mengen einer kristallinischen Substanz erkennen, das übrige bestand aus einer scheinbar zerfließlichen, amorphen Masse, in der noch einzelne undeutliche Kristallaggregate eingebettet lagen, Konnte die mikroskopische Untersuchung auch keine Aufklärung über die neu entstandenen Substanzen geben, so war doch schon die Feststellung von Wert, daß die Behandlung mit $Ca(OH)_2$ nur zu einer teilweisen, die Behandlung mit $Ba(OH)_2$ aber zu einer ziemlich vollständigen Zerstörung des Dicyandiamides geführt hatte.

Im übrigen schloß ich mich nun ganz an die Angaben von Hallwachs an, indem ich die nach der Gesamt- und Ammoniakstickstoffbestimmung verbliebenen Reste der mit Calcium- und Bariumhydroxyd erhitzten Dicyandiamidlösungen wieder erwärmte, mit verdünnter Salpetersäure bis zur bleibenden sauren Reaktion versetzte und darauf mit

Silbernitat ausfällte. Die mit Bariumhydroxyd behandelte Lösung gab dabei einen geringen weißen, käsigen Niederschlag, die mit $Ca(OH)_2$ behandelte einen ebenfalls weißen, jedoch sehr voluminösen Niederschlag, der beim Abfiltrieren das Filter bis an den Rand füllte, beim Auswaschen mit heißem Wasser jedoch bis auf einen geringen Rest, der ganz dem Silberniederschlag aus der mit Bariumhydroxyd erhitzten Lösung glich, verschwand[1]). Beide gut mit heißem Wasser ausgewaschenen Niederschläge erwiesen sich denn auch bei der Analyse, die sich nur auf die Bestimmung des Silber- und Stickstoffgehaltes erstreckte, als völlig miteinander übereinstimmend und dem amidodicyansauren Silber entsprechend zusammengesetzt. Die Bildung von Amidodicyansäure beim Erhitzen von Dicyandiamidlösung mit Calciumhydroxyd war somit sichergestellt; ich tat aber noch ein übriges und identifizierte meine beiden Silbersalze mit amidodicyansaurem Silber, welches ich nach einer anderen, ebenfalls von Hallwachs angegebenen Methode aus Cyanamid und cyansaurem Kali hergestellt hatte. Schließlich wurden dann noch die beiden Filtrate, aus denen ich die Silbersalze ausgefällt hatte, mit Ammoniak versetzt, wobei in beiden Lösungen ein gelber Niederschlag entstand, in der mit $Ba(OH)_2$ behandelten Lösung in größerer Menge, als in der mit $Ca(OH)_2$ behandelten; an seinem charakteristischen Aussehen und Verhalten konnte dieser Niederschlag leicht als die Silberverbindung des Cyanamides erkannt werden, welches, wie schon bemerkt, beim Erhitzen in verdünnter alkalischer Lösung sich zwar schnell zu Dicyandiamid polymerisiert, in starken alkalischen Lösungen aber längere Zeit unverändert bestehen bleibt.

Durch diese Untersuchungen war zur Genüge nachgewiesen, daß die Zersetzung des Dicyandiamides unter dem Einflusse von Calciumhydroxyd in qualitativer Hinsicht in der nämlichen Weise verläuft, wie die Zersetzung des Dicyandiamides durch Barytlauge; zugleich war aber auch festgestellt, daß eine bedeutende Verschiedenheit in quantitativer Hinsicht bestand, die jedenfalls als Folge der geringen Löslichkeit des Calciumhydroxydes zu betrachten war. Möglicherweise hatte man also bei dem sehr geringen Calciumhydroxydgehalte der bei bakteriologischen Versuchen benutzbaren Kalkstickstofflösungen eine noch größere Herabsetzung der Wirkung des Calciumhydroxydes zu erwarten, so daß sich immer noch zunächst kein Urteil darüber abgeben ließ, welche Verbindungen nun eigentlich in den sterilisierten Kalkstickstofflösungen durch die Tätigkeit der Bakterien in Ammoniak übergeführt waren. In Betracht kamen nach den voraufgegangenen Untersuchungen die Amidodicyansäure und die Cyansäure oder die Kalkverbindungen dieser Substanzen; das Cyanamid schied aus, da es ja in verdünnter alkalischer Lösung schnell in Dicyandiamid übergeht und das Dicyandiamid war schon nach dem bereits mitgeteilten, ergebnislos verlaufenen Umsetzungsversuche in Nährlösung überhaupt ausgeschlossen. Meine Absicht war nun eigentlich, zur weiteren Klarstellung der Frage nach den das Ammoniak in den sterilisierten Kalkstickstoffkölbchen liefernden Verbindungen die Kalksalze der Amidodicyansäure und Cyansäure herzustellen und auf ihre Zersetzungsfähigkeit durch Bodenbakterien zu prüfen; die Ueberlegung aber, daß der Umständlichkeit der Darstellung dieser beiden Verbindungen kein genügend großes Interesse an ihnen in irgendeiner anderen Beziehung gegenüberstehe, veranlaßte mich, darauf zu verzichten.

1) Der beim Auswaschen mit heißem Wasser in Lösung gegangene Teil des Silberniederschlages bestand aus der Silberverbindung des Dicyandiamides.

Ich begnügte mich daher mit der leichteren Entscheidung der Frage, ob von der in der wässerigen Lösung des Kalkstickstoffes vorhandenen Verbindung $(CN.NH)_2Ca$ nach dem Sterilisieren überhaupt noch etwas vorhanden war; war das nicht der Fall und trat doch trotzdem eine Ammoniakbildung in den sterilisierten und mit Boden geimpften Kolben ein, so war ja auch damit zugleich ein indirekter Beweis dafür geliefert, daß von den durch die weitergehende Zersetzung in der Kalkstickstofflösung entstehenden Spaltungsprodukten des Dicyandiamides, der Amidodicyansäure oder der Cyansäure, oder auch von diesen beiden Verbindungen der Stickstoff für die Ammoniakbildung hergegeben sein mußte.

Den diese Frage betreffenden Versuch führte ich folgendermaßen aus: In kleine Kölbchen wurden zum Teil 90 ccm Wasser, zum Teil 90 ccm Nährlösung eingefüllt und dazu 10 ccm einer Kalkstickstofflösung gegeben, die 36 mg N enthielt. Ein Teil der Kölbchen von jeder Reihe wurde dann im Dampftopfe durch jedesmal halbstündiges Erhitzen an 3 aufeinander folgenden Tagen sterilisiert, während der andere Teil nicht sterilisiert wurde. Die sterilisierten Kölbchen wurden in größerer Anzahl angesetzt, als die nicht sterilisierten, weil die durch das Sterilisieren hervorgerufenen Veränderungen der in ihnen enthaltenen Lösungen chemisch untersucht werden sollten. Nach vollendeter Sterilisation wurden dann die Kölbchen mit 10 Proz. Lehmboden beimpft, blieben 21 Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen (Oktober-November 1907) und wurden dann durch Destillation mit MgO auf die in ihnen eingetretene Ammoniakbildung geprüft. Bevor ich jedoch die Resultate dieser Ammoniakbestimmungen mitteile, sollen hier erst die Veränderungen beschrieben werden, welche die Kalkstickstofflösung dieses Versuches beim Sterilisieren erlitten hatte.

Zu Anfang des Versuches enthielten, wie schon angegeben, die Kölbchen mit Kalkstickstofflösung 36 mg N als Cyanamidstickstoff in der Verbindung $(CN.NH)_2Ca$. Daß diese Stickstoffmenge sich tatsächlich ausschließlich in der genannten Form in der Lösung befand, ließ sich leicht durch die von Perotti[1]) mitgeteilte Titrationsmethode für Calciumcyanamid und Cyanamid feststellen. Diese Methode, die sich ganz an die bekannte Chlorbestimmungsmethode von Volhard anlehnt, führte ich mit unwesentlichen Aenderungen, die ein etwas schnelleres Arbeiten gestatteten, in folgender Weise aus: Eine entsprechend verdünnte Calciumcyanamid- oder Cyanamidlösung wird in einem 200 ccm-Kölbchen nach vorherigem Zusatz von 4 Tropfen konzentrierten Ammoniaks mit 50 ccm einer $\frac{N}{10}$-Silbernitratlösung unter Umschütteln versetzt, wobei die Reaktion der Flüssigkeit alkalisch bleiben muß, damit eine quantitative Abscheidung des gelben Cyanamidsilbers erreicht wird. Der Ammoniakzusatz dient nämlich zur Neutralisation der Salpetersäure, die bei der Reaktion nach den folgenden Umsetzungsgleichungen entsteht und bei nicht genügendem Ammoniakzusatze einen Teil des leicht in Salpetersäure löslichen Cyanamidsilbers wieder in Lösung bringen würde:

1) $(CN.NH)_2Ca + 4\,AgNO_3 = 2\,CN.NAg_2 + Ca(NO_3)_2 + 2\,HNO_3$;
2) $CN.NH_2 + AgNO_3 = CN.NAg_2 + 2\,HNO_3$.

Nach der Fällung wird auf 200 ccm mit destillierten Wasser aufgefüllt, durch ein Faltenfilter filtriert und in 100 ccm des Filtrates, entsprechend der Hälfte der angewandten Kalkstickstoff- oder Cyanamid-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 50.

lösung nach erfolgtem Ansäuern mit verdünnter HNO_3 und Zusatz einiger Tropfen Ferrisulfatlösung der Ueberschuß der Silberlösung mit $\frac{N}{10}$-Rhodanammoniumlösung zurücktitriert. 1 ccm verbrauchte Silberlösung entspricht dann 1,40 mg Stickstoff in der angewandten Lösung.

Wie meine Versuche mir zeigten, ist diese Methode in der beschriebenen Form aber nur für reine Lösungen von Calciumcyanamid und Cyanamid brauchbar. Man kann sie daher für die Titration von Kalkstickstofflösungen nur dann anwenden, wenn diese durch Verdünnen sehr konzentrierter Lösungen des Kalkstickstoffes hergestellt sind. Beim Ausschütteln geringer Mengen Kalkstickstoff mit viel Wasser, z. B. 2 g mit 1000 ccm, geht eine zu große Menge Calciumhydroxyd mit in Lösung; dadurch wird dann beim Zusatz der Silbernitratlösung die Ausfällung von Silberhydroxyd bewirkt, wodurch natürlich ein erhöhter Gehalt der Kalkstickstofflösung an Cyanamidstickstoff vorgetäuscht wird. Schüttelt man aber etwa 50 g Kalkstickstoff mit 1000 ccm Wasser aus, so erhält man zwar auch zunächst eine Lösung, die ebenfalls Calciumhydroxyd enthält; durch die für die Titration notwendige Verdünnung wird der Gehalt an Calciumhydroxyd in der zu titrierenden Lösung aber so gering, daß er keinen störenden Einfluß auf das Resultat auszuüben im stande ist. Gerade so wie bei der Titration verdünnter, $Ca(OH)_2$-haltiger Kalkstickstofflösungen liegen natürlich die Verhältnisse auch dann, wenn $Ca(OH)_2$-freie Lösungen erhitzt worden sind; denn hierbei scheidet sich ja wiederum Calciumhydroxyd aus. Um daher den störenden Einfluß des Calciumhydroxydes auszuschalten, verfährt man am besten so, daß man vor dem Zusatz des Ammoniaks und der Silberlösung erst durch Zusatz von verdünnter Salpetersäure das Calciumhydroxyd in Nitrat umwandelt und dann erst in der beschriebenen Weise die Methode weiter ausführt.

Mit Hilfe der so umgestalteten Perottischen Methode ließen sich nun die Veränderungen in den sterilisierten Lösungen leicht verfolgen. Die Titration nach dem ersten halbstündigen Erhitzen im Dampftopfe ergab, daß die Calciumcyanamidlösung nur noch die Hälfte ihres ursprünglichen Gehaltes an Cyanamidstickstoff besaß, nämlich 16,56 mg, und nach dem zweiten halbstündigen Erhitzen nur noch 7,38 mg. Das dritte Erhitzen der Lösung, welches infolge eines Versehens allerdings eine Stunde gewährt hatte, brachte den Cyanamidstickstoff vollkommen zum Verschwinden. Trotzdem trat aber nun in den mit Erde beimpften Kölbchen eine ganz beträchtliche Ammoniakbildung ein, wie aus den Zahlen der Tabelle III zu ersehen ist.

Tabelle III.

Reihe mit Nährlösung				Reihe mit Wasser			
Sterilisiert		Nicht sterilisiert		Sterilisiert		Nicht sterilisiert	
Mit Erde	Ohne Erde	Mit Erde	Ohne Erde	Mit Erde	Ohne Erde	Mit Erde	Ohne Erde
18,40	3,75	9,60	5,95	14,60	3,41	3,24	1,08
18,14	4,05	9,47	5,68	14,03	3,92	3,38	1,06

Die in der Tabelle in Milligrammen angegebenen Werte für den nach 21 Tagen in den Kölbchen vorhandenen Ammoniakstickstoff lassen sehr deutlich erkennen, wie grundverschieden die durch das Sterilisieren gebildeten Stickstoffverbindungen von dem in den nicht sterilisierten Kölbchen vorhandenen Calciumcyanamid sein müssen. Ganz besonders

zeigt das die sterilisierte Reihe mit der wässerigen Kalkstickstofflösung ohne Zusatz irgendwelcher Nährstoffe; hier sind aus den Kölbchen, die sterilisiert aber nicht mit Erde beimpft waren, 3,41 und 3,92 mg NH_3-Stickstoff abgespalten und aus den beimpften 14,60 und 14,03 mg, während in den entsprechenden nicht sterilisierten Kölbchen kaum 2 mg N auf Rechnung der Bakterientätigkeit zu setzen sind. Auch in der Reihe mit Nährlösung überwiegt der Stickstoffumsatz in den sterilisierten und beimpften Kölbchen den in den nicht sterilisierten, also Calciumcyanamid enthaltenden, noch um mehr als das Dreifache[1]). Die Frage, die der Versuch beantworten sollte — ob nämlich in einer Kalkstickstofflösung nach der Zerstörung des Calciumcyanamides noch Stickstoffverbindungen vorhanden wären, die durch Bodenbakterien in Ammoniak übergeführt werden könnten — war somit durchaus in positivem Sinne entschieden, und auf Grund der ausgeführten chemischen Versuche waren demnach auch aller Wahrscheinlichkeit nach die obengenannten Substanzen, Amidodicyansäure oder Cyansäure, oder beide, dafür verantwortlich zu machen; auf keinen Fall aber konnten, was natürlich auch am wichtigsten ist, mit dieser Ammoniakbildung noch irgendwelche dem Kalkstickstoffe nahestehende Substanzen, wie die Verbindung $(CN.NH)_2Ca$, Cyanamid oder Dicyandiamid in direkten Zusammenhang gebracht werden.

Wenn ich mir nun trotzdem auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse noch kein abschließendes Urteil über die Verhältnisse zu bilden erlaubte, die bei den Versuchen von Löhnis vorgelegen haben mußten, so lag das an einer Unsicherheit, die in mir meine Abweichung von dem durch Löhnis eingehaltenen Sterilisationsverfahren hervorrief. Einerseits hatte ich nämlich, statt wie Löhnis die Lösung an 3 oder 5 aufeinanderfolgenden Tagen jedesmal eine halbe Stunde lang im strömenden Dampfe zu erhitzen, bei meinem 1. Versuche die Lösung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen jedesmal eine ganze Stunde lang erhitzt und hatte auch beim 2. Versuche infolge eines Versehens das von Löhnis beobachtete Maß überschritten. Andererseits aber hatte ich obendrein auch noch die Abdampföffnung des Dampftopfes durch Einsetzen eines Gummistopfens mit einem Thermometer verschlossen, so daß, wenngleich der Dampf an mehreren Stellen am Rande des Deckels austrat, doch möglicherweise ein geringer Druck im Apparat geherrscht haben konnte, der bei den Versuchen von Löhnis nicht vorhanden gewesen war. Um mir Gewißheit darüber zu verschaffen, ob meine Art zu sterilisieren vielleicht eine zu weitgehende Zersetzung der Kalkstickstoflösung herbeigeführt hatte, setzte ich daher nochmals zwei Sterilisierungsversuche an, den einen nach meiner alten Weise mit zugestopfter Abdampföffnung, den anderen mit freier Abdampföffnung, also wirklich im strömenden Dampfe. Die Sterilisationsdauer wurde bei beiden Versuchen genau eingehalten, indem die Lösungen erst dann in den Dampftopf eingesetzt wurden, wenn er ordentlich abdampfte und jedesmal genau nach einer halben Stunde herausgenommen wurden. Dabei veränderte sich der Gehalt der Lösungen an Calciumcyanamidstickstoff in folgender Weise:

(Siehe Tabelle IV p. 714.)

Wie man sieht, ist der Verlauf und das Endergebnis beider Sterilisationsweisen nicht sehr voneinander verschieden. Beim Sterilisieren mit

1) Die ziemlich hohe abspaltbare Stickstoffmenge in den nicht sterilisierten und nicht beimpften Kölbchen der Reihe mit Nährlösung ist sicherlich auf eine Infektion mit Luftkeimen zurückzuführen.

Tabelle IV.

	Versuch bei geschlossener Abdampföffnung	Versuch im strömenden Dampfe
Anfangsgehalt	33,00 mg Cyanamid-N	33,00 mg Cyanamid-N
1. Tag, $^1/_2$ Stunde	18,28 „ „	20,26 „ „
2. „ $^1/_2$ „	10,16 „ „	9,04 „ „
3. „ $^1/_2$ „	7,19 „ „	4,92 „ „
4. „ $^1/_2$ „	2,19 „ „	3,56 „ „
5. „ $^1/_2$ „	0,6 „ „	3,56 „ „

geschlossener Abdampföffnung bleiben nach 5maligem Erhitzen 0,6 mg, beim Erhitzen im strömenden Dampf 3,56 mg Cyanamidstickstoff übrig. Aber auch hier ergab sich beim Beimpfen der im strömenden Dampfe 5mal sterilisierten Probe, daß sie bedeutend mehr durch Bakterien zersetzbaren Stickstoff enthielt, als von dem Rest des vorhandenen Cyanamidstickstoffes herrühren konnte; 2 Kölbchen spalteten nach der Beimpfung mit 10 g Boden innerhalb 3 Wochen im Mittel 10,22 mg Ammoniakstickstoff ab, die unbeimpften Kontrollkölbchen nach Ablauf der nämlichen Zeit 3,73 mg, wobei noch zu bemerken ist, daß diese Ammoniakbildung in vollkommen nährstofffreier Lösung vor sich gegangen war.

Werden die Resultate dieses letzten Versuches noch in meine Beweisführung eingereiht, so dürfte das eingangs bereits abgegebene Urteil, daß nämlich die Arbeit von Löhnis keine Antwort auf die eigentliche Fragestellung nach der Zersetzung der Kalkstickstoffes gäbe, vollauf berechtigt erscheinen. Im günstigsten Falle könnten bei den Versuchen mit Reinkulturen, bei denen 5mal eine halbe Stunde lang sterilisierte Lösungen zur Verwendung gelangten, 3—4 mg des gebildeten Ammoniakstickstoffes der Zersetzung des Calciumcyanamides zugeschrieben werden; durchgängig ist aber die Menge des bei diesen Versuchen abgespaltenen Ammoniakstickstoffes viel größer, als die des etwa noch vorhanden gewesenen Cyanamidstickstoffes; der Ueberschuß muß also von den anderen Stickstoffverbindungen herrühren, und da hat denn doch noch die Annahme die größere Wahrscheinlichkeit für sich, daß die Bakterien überhaupt erst einmal die leichter zersetzlichen Verbindungen in Angriff genommen haben werden und da diese in weit größerer Menge vorhanden waren als das Calciumcyanamid, letzteres vielleicht ganz verschmäht haben. Aber auch bei den Versuchen, bei denen Erde als Impfmaterial gedient hat und nur 3mal eine halbe Stunde lang sterilisiert worden ist, kann nur eine geringe Menge des gebildeten Ammoniakstickstoffes auf Rechnung des Calciumcyanamides gesetzt werden. Nach meinen Titrationsergebnissen waren nach dreimaligem Erhitzen noch ca. 7 mg Calciumcyanamidstickstoff vorhanden; ich vermute aber, daß es sich bei dem Versuche von Löhnis um eine noch geringere Menge gehandelt hat, weil Löhnis beim Sterilisieren den unlöslichen Rückstand des Kalkstickstoffes, der auch noch freien Aetzkalk enthielt, in seiner Lösung beließ. Das dadurch die Zersetzung des Calciumcyanamides wesentlich begünstigt wird, glaube ich aus 2 Versuchen folgern zu dürfen. Bei dem ersten dieser Versuche war der ganze Kalkstickstoff bei der Sterilisation in der Lösung, die 33 mg Stickstoff enthielt, verblieben und die nach der Sterilisation abspaltbare Stickstoffmenge betrug 9,66 mg, bei dem zweiten Versuche aber kam eine reine, filtrierte Calciumcyanamid-

lösung zur Verwendung und die Menge des aus ihr nach der Sterilisation abspaltbaren Stickstoffes betrug nur 4 mg. Aber selbst wenn die Wirkung des Sterilisierens auf die Zerstörung des Calciumcyanamides durch das Verbleiben des unlöslichen Rückstandes in der Lösung nicht erhöht würde, so ist doch bei dem großen Gesamtstickstoffumsatze dieser Versuche, der nach 6 Wochen 52—98 Proz. erreichte, der davon auf etwa unzerstörtes Calciumcyanamid entfallende Anteil zu gering, als daß der Wert der Versuche dadurch gerettet werden könnte.

Bei bakteriologischen Arbeiten über Kalkstickstoff darf man also unter keinen Umständen die Kalkstickstofflösungen einer Sterilisation, ja überhaupt nur einer Erwärmung unterwerfen; da sie aber dennoch, besonders wenn sie organische Nährstoffe enthalten, vor einer Infektion durch Luftkeime geschützt werden müssen, so kann man entweder so verfahren, daß man die Nährlösung für sich im strömenden Dampfe und den Kalkstickstoff in fester Form durch trockene Hitze sterilisiert, die er voraussichtlich, nach seiner Darstellungsweise zu urteilen, bis zu einem ziemlich hohen Grade verträgt, oder aber man verzichtet, was für Versuche, bei denen mit Erde beimpft wird, wohl unbedenklich geschehen kann, gänzlich auf eine Sterilisation des Kalkstickstoffes und wägt ihn einfach der vorher sterilisierten Nährlösung zu. Bei anderen bakteriologischen Arbeiten, wie z. B. Herstellung von Kalkstickstoffgelatine, einen guten Rat zu geben, dürfte jedoch schon schwieriger sein, und da muß es dem die näheren Umstände bei solchen Arbeiten besser beurteilenden Bakteriologen überlassen bleiben, sich einen passenden Ausweg zu suchen. Die Mitteilung der vorstehenden Untersuchungen hat sich jedenfalls auch schon vollauf gelohnt, wenn der über Kalkstickstoff arbeitende Bakteriologe dadurch auf die Gefahren aufmerksam geworden ist, die ihn auf diesem Gebiete infolge der leichten Veränderlichkeit der Kalkstickstoffverbindungen umgeben.

Nachwort.

Nach vollendeter Niederschrift der vorliegenden Arbeit erhalte ich Kenntnis von den „Neuen Untersuchungen über die Zersetzung und die Wirkung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk“ von Dr. Löhnis und A. Sabaschnikoff. In dem Auszuge daraus, den Löhnis in Fühlings Landw. Zeitung. 1908. Heft 1 mitteilt, werden einige von mir in der nämlichen Zeitschrift. 1907. Heft 4 veröffentlichten Versuche über „Die Umwandlung des Kalkstickstoffes und seiner Zersetzungsprodukte im Boden“ einer scharfen Kritik unterzogen. Ein näheres Eingehen darauf an dieser Stelle will ich mir versagen und nur betonen, daß sie mir keine Veranlassung gegeben hat, auch nur ein Wort an meinen vorstehenden Mitteilungen, die mit jenen kritisierten in engem Zusammenhange stehen, zu ändern. Für das Unzutreffende der Kritik in den meisten Stücken geben nämlich bereits meine neuen oben angeführten Versuche mancherlei Beweise und weitere wird man in einer schon abgeschlossenen mir vorliegenden Arbeit „Ueber die Absorption des Kalkstickstoffes im Boden“ vorfinden. Ich beabsichtige jedoch auch, später auf die Kritik Löhnis in eingehender Weise zurückzukommen.

Ueber Ambrosiakäfer und ihre Beziehungen zur Gummibildung bei Acacia decurrens.

Von Prof. Dr. **A. Zimmermann,** Amani, D. Ost-Afrika.

Mit 7 Figuren.

Auf dem Versuchsterrain von Amani wurde im Oktober dieses Jahres bei einer Anzahl von ca. $1^1/_2$ Jahre alten Bäumen von Acacia decurrens an ganz jungen und auch bis zu daumdicken Zweigen die Ausscheidung von Gummitropfen beobachtet. Bei näherem Zusehen konnten ferner an den meisten dieser Zweige kleine Bohrlöcher aufgefunden werden, die anscheinend von einer zu den Bostrychiden gehörigen Käferart herstammten und zu der Gummibildung in Beziehung zu stehen schienen. Bei genauerer Untersuchung wurden dann auch in der Tat in verschiedenen von diesen Bohrgängen noch Larven und Käfer angetroffen, die nach dem Bau ihrer Fühler, der geringen Größe der Männchen etc. zu der Gattung Xyleborus zu gehören scheinen.

Die von diesen Käfern gebohrten Eingangsröhren verlaufen, wie die nebenstehenden Figuren 1b und 1c erkennen lassen, zuweilen genau radial nach dem Mark zu oder auch etwas über dasselbe hinaus. Häufiger kreuzen sie aber die Markstrahlen unter einem mehr oder weniger spitzen Winkel und verlaufen in krummer, häufig hakenförmiger Bahn nach dem Mark hin oder auch um dieses herum bis nahezu zum Anfang des Bohrganges. Von diesen Eingangsröhren gehen dann ferner nach oben und unten ein oder auch mehrere Seitengänge aus; in vielen Fällen ist einfach das Mark 1—3 cm weit ausgefressen (Fig. 1),

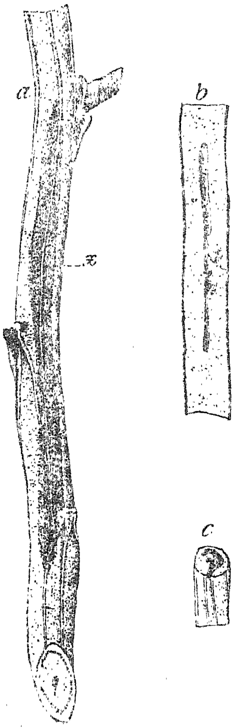


Fig. 1. Zweigstücke von Acacia decurrens. *a* mit Bohrgang bei *x*; *b* mittlere Partie desselben Stückes im medianen Längsschnitt; *c* Zweigstück in der Höhe der Eingangsröhre quer durchschnitten. $^2/_3$ natürl. Größe.

In diesen Bohrgängen findet man gewöhnlich eine größere Anzahl von Käfern und Larven nebeneinander. Besonders auffallen mußte es aber, daß in der unmittelbaren Nähe der mit Käfern besetzten Bohrgänge niemals Gummibildung beobachtet wurde. Dahingegen war auch in der unmittelbaren Umgebung des Bohrloches die Rinde nach allen Seiten, namentlich aber nach oben und unten hin geschwärzt (Fig. 1a). Das Holz war ferner meist noch bedeutend weiterhin gebräunt. Bei mikroskopischer Untersuchung konnten ferner in den Gefäßen des gebräunten Holzes konstant Pilzfäden von der gleichen Beschaffenheit nachgewiesen werden, und es lag somit die Vermutung nahe, daß die betreffenden Käfer zu den sogenannten Ambrosiakäfern gehörten, was auch in der Tat durch die weiteren Untersuchungen bestätigt wurde. Bevor ich aber zu einer näheren Besprechung dieser Untersuchungen übergehe, will ich einige allgemeine Bemerkungen über Ambrosiakäfer, die bisher

in der phytopathologischen Literatur nur wenig Beachtung gefunden haben, vorausschicken.

I. Historisches über Ambrosiakäfer. Nach Judeich und Nitsche (I, 538) stammt der Ausdruck Ambrosia von Schmidberger her. Seine Angaben beziehen sich speziell auf Tomicus dispar, und er berichtet, daß er die von den Weibchen gemachten Gänge mit einer weißlichen, einer Salzkruste ähnlichen Substanz überzogen fand, welche nach seiner Ansicht von dem Weibchen aus dem ausgetretenen und ins Stocken geratenen Baumsafte mit Hinzutun eines eigenen Saftes bereitet wird. Diese Substanz, welche er Ambrosia nennt, hielt er für die Nahrung der Larven, und fand sie stets in den Brutgängen, in denen ausgewachsene Larven vorhanden waren, völlig aufgezehrt.

Von Th. Hartig wurde dagegen bereits 1844 richtig erkannt, daß die Ambrosia aus Pilzrasen besteht, welche direkt der durchnagten Holzfaser, die an ihrem äußeren Ende eine dunkelbraune Färbung erhalten hat, entspringt. Er nimmt diesen Rasen, der ,,sich von den Borkenkäfern abgeweidet, in kurzer Zeit regeneriert", als die einzige Nahrung der Larven an.

Eine ausführliche Beschreibung verschiedener Ambrosiakäfer, der von denselben gebohrten Gänge und der verschiedenen zugehörigen Ambrosiapilze wurde sodann von Hubbard (I) geliefert.

Daß die Ambrosia trotzdem in der entomologischen Literatur bisher wenig Beachtung gefunden haben, geht wohl zur Genüge daraus hervor, daß Nüsslin in dem 1905 erschienenen Leitfaden der Forstinsektenkunde p. 145 in dieser Hinsicht nur Folgendes bemerkt: „Bei den meisten Xyleborus-Arten hört sogar jegliche Aufnahme von fester Holznahrung auf, die Larven haben nur die Auswahl, sich entweder vom Holzsafte, der an den Wänden der Muttergänge ausschwitzt oder von den daselbst angesiedelten Pilzwucherungen zu ernähren." Bei der speziellen Beschreibung der Gattung Xyleborus (p. 206) sagt er sogar: „Es erscheint natürlich, daß die Holzmasse dieser Puppenwiege nicht zur Ernährung der Larve hinreicht und daß dieser die im Innern ausschwitzenden Holzsäfte in erster Reihe zur Ernährung dienen."

In dem die Krankheiten der Pflanzen behandelnden Handbuche von Frank (I, 282) wird die Bedeutung der Ambrosiapilze bei Besprechung der im Holze lebenden Borkenkäfer überhaupt nicht erörtert.

Daß übrigens die Ambrosiapilze in der phytopathologischen Literatur bisher so wenig Beachtung gefunden haben, ist um so auffallender, als dieselben für die befallenen Pflanzen in vielen Fällen viel schädlicher sein dürften, als die relativ kleinen Bohrgänge der Ambrosiakäfer selbst.

II. Eigene Untersuchungen über den Ambrosiapilz. Namentlich in solchen Gängen, die nicht mehr von Käfern bewohnt sind, beobachtet man häufig auf der Oberfläche derselben die weiß oder bräunlichgrau erscheinende Ambrosiaschicht. Dieselbe kann eine Dicke von 0,4 mm erreichen und besteht, wie die mikroskopische Untersuchung sofort erkennen läßt, ganz in Uebereinstimmung mit den Angaben von Th. Hartig, ausschließlich aus Pilzzellen. Diese zeigten ferner in allen untersuchten Gängen von Acacia decurrens die gleiche Zusammensetzung. Sie bestehen nämlich aus kugeligen Endzellen von 10—15 μ Durchmesser, die verzweigten dünneren Zellfäden aufsitzen. Die diese Fäden bildenden Zellen sind meist in der Mitte etwas tonnenförmig angeschwollen und durchschnittlich ca. 5 μ dick (Fig. 2).

Namentlich die Stielzellen enthalten ferner meist zahlreiche, stark

lichtbrechende Kügelchen, während die größeren Endzellen gewöhnlich nur auf einer Seite einen schwachen Belag von Kügelchen aufweisen. Mit Jodjodkaliumlösung geben allerdings auch die Endzellen eine intensive Glykogenreaktion.

Die Zellmembranen des Ambrosiapilzes sind in frisch gebildeten Gängen vollkommen hyalin. In älteren Gängen konnte dagegen häufig beobachtet werden, daß namentlich die der Wandung zugekehrten Zellen der Ambrosiaschicht mehr oder weniger dunkel rußbraun gefärbt waren. Die gleiche Färbung wurde übrigens sowohl an den Stielzellen als auch an den kugeligen Endzellen wahrgenommen.

Ich habe auch an den Kugelzellen in keinem Falle nachweisen können, daß sie eine dickere oder sonstwie differenzierte Membran gebildet hätten, und es erscheint mir nach allem sehr unwahrscheinlich, daß wir dieselben als Fortpflanzungsorgane des Ambrosiapilzes aufzufassen hätten.

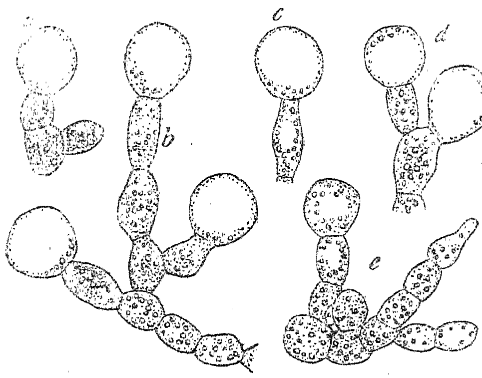


Fig. 2.

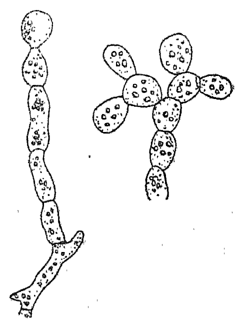


Fig. 3.

Fig. 2. Zellen der Ambrosiaschicht. *a* aus einem sehr alten Gange; *b*—*d* aus jüngeren Gängen; *e* aus einem auf der Schnittfläche von gebräuntem Holz gebildeten Polster. Vergr. 612.

Fig. 3. Zellfäden, die im hängenden Tropfen aus Zellen der Ambrosiaschicht hervorgewachsen sind. Vergr. 612.

Bei der Aussaat im hängenden Tropfen, wobei teils reines und mit kleinen Holzstückchen von *Acacia decurrens* versetztes Wasser, teils auch ein Dekokt von Zweigstücken der genannten Pflanze als Kulturflüssigkeit dienten, blieben die Zellen des *Ambrosia*-Pilzes meist unverändert. Nur in dem mit Holzstückchen versetztem Wasser wuchsen in einigen Fällen aus Zellen desselben kurze Fäden hervor, die in ihrer Struktur mit den Zellen der echten Ambrosia übereinstimmten (Fig. 3). Die Keimschläuche wuchsen übrigens in diesen Fällen fast ausnahmslos aus den tonnenförmigen Stielzellen hervor.

Eine anderweitige Fruktifikation des Ambrosiapilzes habe ich bisher nicht mit Sicherheit nachweisen können. Ich beobachtete zwar an den von dem Ambrosiapilz befallenen Zweigstücken einige Male Pykniden einer *Diplodia*. Dieser Pilz kann aber natürlich auch ebensogut sekundär aufgetreten sein.

Mit Sicherheit habe ich mich dagegen wiederholt davon überzeugen können, daß *die Larven der Ambrosiakäfer die Ambrosiaschicht abfressen*, während sie andere Pilzrasen, z. B. einen solchen von *Penicillium glaucum*, verschmähten.

Ferner konnte auch nachgewiesen werden, daß das bereits erwähnte Pilzmycel, welches sich in den gebräunten Holzteilen oberhalb und unterhalb der Bohrgänge befindet, mit der Ambrosiaschicht zusammengehört. Hierfür spricht zunächst der Umstand, daß dies Mycel, das in der unmittelbaren Umgebung der Bohrgänge die Gefäße und Holzzellen fast vollständig ausfüllt, ganz kontinuierlich in die Ambrosiaschicht übergeht, mit der das Mycel auch in der Färbung vollständig übereinstimmt. In der Umgebung ganz junger Bohrgänge sind nämlich Mycel und Ambrosiaschicht vollständig hyalin, während sie beide später rußbraun bis fast schwarz werden.

Bezüglich der morphologischen Eigenschaften des in dem gebräunten Holze enthaltenen Mycels will ich nun aber zunächst noch an dieser Stelle erwähnen, daß dasselbe in einiger Entfernung von den Bohrgängen in den Gefäßen am leichtesten zu beobachten ist. Man findet in diesen meist einen bis zu 8 μ dicken Faden, der aus einer Reihe von 150—200 μ langen Zellen besteht und bedeutend dünnere Seitenzweige trägt, und zwar findet die Verzweigung meist in der Weise statt, daß dicht unter einer Querwand des Hauptfadens 2 Seitenäste abgehen, wie dies auch Fig. 4 und 5 erkennen lassen. Diese Seitenäste können sich dann aber wieder in der gleichen Weise verzweigen, wobei sie gleichzeitig an Dicke immer mehr abnehmen.

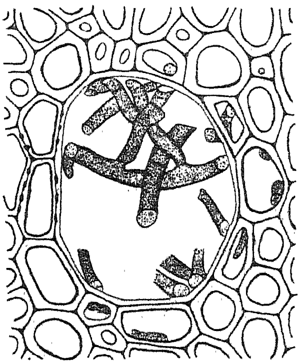


Fig. 4.

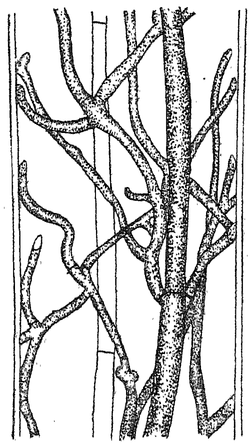


Fig. 5.

Fig. 4. Querschnitt durch Holz von Acacia decurrens mit Mycel des Ambrosiapilzes. Vergr. 486.

Fig. 5. Das in einem Gefäßstück enthaltene Mycel des Ambrosiapilzes. Die Gefäßwand ist nur schematisch durch Doppellinie angedeutet. Vergr. 486.

Relativ leicht ist ferner der Nachweis der Mycelfäden in den gebräunten Markzellen. Die Fäden sind hier aber meist relativ sehr fein und hyalin oder hell bräunlich gefärbt. Außerdem enthalten die gebräunten Markzellen meist einen gebräunten Wandbelag und diesem anliegend hohlkugelförmige Blasen, die wohl sicher ebenfalls aus dem absterbenden Zellinhalt entstanden sind.

Die gleiche Beschaffenheit besitzen auch die gebräunten Markstrahlzellen; doch gelang es mir bei diesen nur in vereinzelten Fällen, Mycelfäden zu beobachten und ich muß es infolge dessen für zweifelhaft halten, ob dieselben überhaupt zu dem Ambrosiapilz gehören.

Daß nun übrigens die in den gebräunten Holzteilen vorhandenen Mycelfäden wirklich zu dem Ambrosiapilz gehören, wird auch dadurch sehr wahrscheinlich gemacht, daß sich bei gespaltenen Zweigstücken, die ober- oder unterhalb eines Bohrganges entnommen waren, in feuchter Luft schon nach 24 Stunden an der Oberfläche der gebräunten Partieen des Holzes wiederholt kleine Pilzrasen bildeten, die nach dem Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung ebenso wie die Ambrosiaschicht aus tonnenförmigen Stielzellen und kugeligen Endzellen bestanden (Fig. 2 *e*). Bei der direkten Aussaat von in Wasser aufgeschwemmten Zellen der Ambrosiaschicht auf Zweigwunden von lebenden Pflanzen von Acacia decurrens trat dagegen in keinem Falle Infektion ein.

Ein dritter Beweis für die Zusammengehörigkeit zwischen dem das Holz bräunenden und abtötenden Pilzmycel wird aber ferner dadurch erbracht, daß die Ambrosiakäfer gesunde Zweige nicht nur mit der Ambrosiaschicht, sondern auch mit dem das Holz abtötenden Mycel infizieren. Bei diesen Versuchen wurden 15—30 cm lange, gesunde Zweigstücke von Acacia decurrens zusammen mit einer Anzahl Käfer in ein mit Glasplatte bedecktes großes Cylinderglas gebracht. Schon am folgenden Tage hatten sich dann meist bereits verschiedene Käfer in die Zweigstücke eingebohrt, wie an dem an den Bohrstellen ausgeworfenen Bohrmehl leicht zu erkennen war. Von den angebohrten Zweigen wurde dann die untere Schnittfläche erneuert und diese in Wasser gestellt und teils mit Glasglocke bedeckt, teils auch ohne Bedeckung an einem gegen direkte Besonnung geschützten Orte im Laboratorium aufgestellt.

Bei der 8—14 Tage später vorgenommenen Untersuchung dieser Zweige zeigte sich nun, daß die Bohrlöcher zum Teil nur sehr oberflächlich geblieben und anscheinend sehr bald von den Käfern wieder verlassen waren. In manchen Fällen war auch der Bohrgang durch Gummibildung verstopft und der Käfer getötet worden. In einzelnen Fällen wurden aber auch normale Gänge innerhalb der angebohrten Zweige angetroffen, in denen auch noch ein lebender Käfer vorhanden war. In 2 von diesen Fällen wurden nun aber ferner auch Anfänge der Ambrosiabildung wahrgenommen und in der Umgebung der Bohrgänge eine Bräunung des Holzes. Das Vorhandensein des charakteristischen Ambrosiapilzes wurde in diesen Fällen natürlich auch durch mikroskopische Untersuchung festgestellt. Ebenso konnte aber innerhalb des gebräunten Holzes das Vorhandensein der langgestreckten dicken Pilzfäden in den Gefäßen und von zahlreichen feinen Pilzfäden im Mark nachgewiesen werden.

Später habe ich nun allerdings die gleichen Versuche auch mit lebenden Pflanzen von Acacia decurrens angestellt. Bei diesen gelang aber die Uebertragung des Ambrosiapilzes nicht. Dahingegen fand ausnahmslos nach einigen Tagen Gummiausscheidung aus den Bohrgängen statt, und es wurden entweder nur tote oder überhaupt keine Käfer mehr in den Bohrgängen wahrgenommen. Ob dies nun darauf zurückzuführen ist, daß die jungen Stengel den Bohrkäfern weniger zusagen, ob die betreffenden Käfer, mit denen ich schon längere Zeit experimentiert hatte, nicht mehr mit dem Ambrosiapilz infiziert waren, ob sich dieser an den jungen Stengeln nicht zu entwickeln vermag oder ob irgend ein anderer Faktor das Resultat der Versuche beeinflußt hat, vermag ich nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Leider mußten aber meine diesbezüglichen Versuche abgebrochen werden, weil

ich in den hiesigen Anpflanzungen von Acacia decurrens zur Zeit keine Ambrosiakäfer mehr zu finden vermag. Sobald sich Gelegenheit dazu bietet, gedenke ich aber, die Versuche nochmals zu wiederholen.

Schon die bisherigen Versuche dürften aber — als Bestätigung der von Th. Hartig verfochtenen Ansicht — zur Genüge dartun, daß die Ambrosiaschicht von den im abgestorbenen Holz vorhandenen Mycel gebildet wird und daß zwischen den Ambrosiakäfern und dem Ambrosiapilz ähnliche Beziehungen bestehen, wie sie von Möller (7) für verschiedene südamerikanische Ameisen und deren Pilzgärten nachgewiesen wurden.

Schließlich möchte ich aber noch besonders hervorheben, daß der Ambrosiapilz, da er Holz und Rinde auf große Strecken hin abtötet, für die Zweige von Acacia decurrens sehr schädlich sein muß und auch in der Tat in den meisten Fällen ein Absterben der befallenen Pflanzenteile bewirkt.

III. Die Beziehungen der Ambrosiakäfer zur Gummibildung. Daß Gummibildung durch sehr verschiedene Ursachen bewirkt werden kann, ist durch die Untersuchungen von Beijerinck und Rant (2), Aderhold (1), Ruhland (9), Mikosch (9) u. a. unzweifelhaft nachgewiesen. Alle von den genannten Autoren beobachteten Fälle von künstlicher Gummibildung haben aber doch das gemeinsam, daß dieser stets eine Verletzung der Gummi erzeugenden Pflanzenteile vorausging, mag dieselbe nun durch mechanische Verletzung, Gifte, Tiere oder Pilze verursacht sein.

Unter diesen Umständen ist es nun leicht begreiflich, daß auch die Ambrosiakäfer in den angebohrten Zweigen eine Gummibildung veranlassen. Daß dieselbe aber unter normalen Verhältnissen nicht in der unmittelbaren Umgebung der Bohrgänge stattfindet, dürfte dadurch zu erklären sein, daß der in den Zweigen sich schnell ausbreitende Ambrosiapilz die in der Umgebung der Bohrgänge gelegenen Zellen so schnell abtötet, daß in ihnen keine Gummibildung mehr stattfinden kann.

Mit dieser Auffassung steht zunächst im Einklang, daß in den Fällen, in denen die Zweige nur oberflächlich angebohrt wurden oder aus irgend welchen Gründen der Ambrosiapilz nicht zur Entwickelung gelangte, auch in unmittelbarer Nähe des Bohrganges Gummibildung stattfand. Am besten zu beobachten war diese bei den bereits erwähnten Versuchen mit jungen Pflanzen von Acacia decurrens. Diese wurden in der Weise ausgeführt, daß die in Töpfen befindlichen Pflanzen, nachdem einige Ambrosiakäfer darauf gesetzt waren, so lange mit einer Glasglocke bedeckt gehalten wurden, bis sich einer oder auch mehrere von den Käfern eingebohrt hatten. Dies war nun in manchen Fällen schon nach wenigen Stunden, meist wenigstens am folgenden Tage der Fall. Die Glasglocken wurden dann entfernt, die Pflanzen verblieben aber in dem mit Glas gedeckten Pflanzenhaus. Im allgemeinen traten dann nach 3—5 Tagen zuerst Gummitropfen aus den Bohrlöchern hervor. Die Intensität der Gummibildung ließ sich aber durch starkes Gießen und abermaliges Bedecken mit einer Glasglocke noch bedeutend beschleunigen. Bei derartig behandelten Pflanzen konnte z. B. wiederholt beobachtet werden, daß nach Entfernung des zuvor gebildeten Gummis in einem Zeitraum von ca. 24 Stunden ein neuer Tropfen von 2—3 mm Durchmesser ausgetreten war.

Die mikroskopische Untersuchung der in der Umgebung der Gummi ausscheidenden Wunden gelegenen Stengelteile ergab nun zunächst, daß die Gummibildung niemals innerhalb des Cambiums in der Jungholzregion stattfindet, wie dies nach den Untersuchungen von Mikosch (6) bei der Bildung des Kirschgummis die Regel ist, daß die Gummilücken vielmehr ausnahmslos in der Rinde angelegt werden, und zwar bald in der ganz jungen Rinde, wie z. B. Fig. 6 zeigt, oder auch in größerer Entfernung vom Cambium (Fig. 7). Meist grenzen von den die Gummilücken umschließenden Zellen die nach außen gekehrten an eine der tangentialen Bastplatten, die in der Rinde von Acacia decurrens mit den dünnwandigen Rindenelementen abwechseln, und zwar wurde in den Rippen der jungen Stämmchen auch auf der Innenseite der drittletzten Bastplatte Gummibildung beobachtet (Fig. 7).

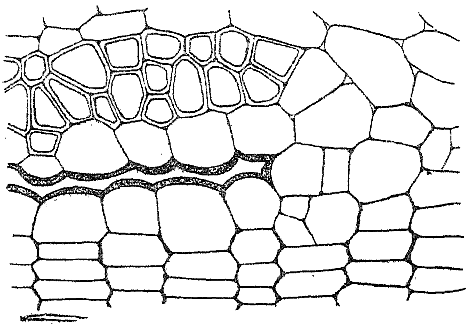


Fig. 6.

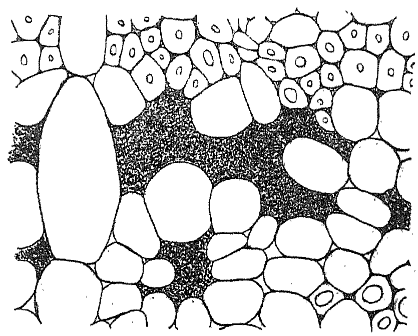


Fig. 7.

Fig. 6. Querschnitt durch Cambium und junge Rinde von Acacia decurrens mit in Entstehung begriffener Gummilücke. Vergr. 612.

Fig. 7. Querschnitt durch Rinde von Acacia decurrens mit älteren Gummilücken. Vergr. 486.

Um die Schnelligkeit, mit der sich in derartigen Fällen die Gummibildung ausbreitet, zu demonstrieren, will ich einen von diesen Versuchen etwas ausführlicher beschreiben: Bei demselben hatte sich am 7. Nov. ein Käfer in das junge Stämmchen eingebohrt. Am 13. Nov. wurde Gummiaustritt am Bohrloch beobachtet. Am folgenden Tage wurde das Stämmchen abgeschnitten und nach vorheriger Härtung in Alkohol untersucht. Der Bohrgang reichte in diesem Falle bis beinahe zum Mark; ein Käfer war nicht darin aufzufinden. Die Gummibildung war durch mikroskopische Untersuchung oberhalb des Bohrganges nur 5, unterhalb desselben 12 mm weit zu verfolgen.

Bei einem anderen Versuche, bei dem die Untersuchung 6 Tage nach der Anbohrung des Stämmchens vorgenommen wurde, war die Gummibildung oberhalb des Bohrloches 20 und unterhalb desselben 50 mm weit zu verfolgen. Vielleicht hängen die Unterschiede zwischen diesen beiden Versuchen damit zusammen, daß bei dem an zweiter Stelle beschriebenen Versuche ein bedeutend jüngerer Stengelteil angebohrt war, wie bei dem ersten Versuche.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der betreffenden Pflanzenteile kann nun übrigens Hämatoxylin mit gutem Erfolg zur Erleichterung der Orientierung über die Verbreitung des Gummis benutzt

werden. Durch diesen Farbstoff — ich benutzte speziell eine stark mit Wasser verdünnte Delafieldsche Lösung — wird nämlich das Gummi von Acacia decurrens in kurzer Zeit intensiv tingiert, und zwar gilt dies nicht nur für das in den Rindenschnitten enthaltene Gummi, sondern auch für die aus den Bohrlöchern ausgetretenen Gummitropfen, die beim Aufquellen in der verdünnten Hämatoxylinlösung schnell eine dunkelviolette Färbung annehmen.

Mit den aus den angebohrten Stengelteilen hervortretenden Gummitropfen stimmt übrigens das in der Rinde enthaltene Gummi auch insofern überein, als es weder durch kaltes, noch durch kochendes Wasser vollständig gelöst wird. Ferner gab das frisch aus den Wunden ausgetretene Gummi, das stets eine sehr hellgelbe Farbe besaß, weder mit Eisensalzen, noch mit Kupfersulfat, Kaliumbichromat oder Osmiumsäure Gerbstoffreaktion. Durch Phlorogucin und Salzsäure wurde dasselbe ebenfalls nicht gefärbt. Ebenso blieb auch das in der Rinde enthaltene Gummi nach Zusatz von Phloroglucin und Salzsäure im allgemeinen ganz ungefärbt. Nur ausnahmsweise wurde eine schwache Rotfärbung beobachtet, namentlich in der unmittelbaren Umgebung der Gummi bildenden Zellen.

Ein ganz ähnliches Verhalten zeigt nun übrigens auch das in den Gefäßen der angebohrten Zweige zu beobachtende Gummi, das häufig in noch größerer Entfernung von den Bohrgängen nachzuweisen ist als das Rindengummi. Diese Gummimassen werden durch Hämatoxylin ebenfalls schön violett gefärbt. Im Gegensatz zum Rindengummi zeigen sie aber nach Zusatz von Phloroglucin und Salzsäure stets eine sehr intensive Rotfärbung. Sie stimmen also in dieser Hinsicht mit dem von Temme (10) zuerst eingehend untersuchten „Wundgummi", das ganz allgemein infolge von Verwundungen in den Gefäßen gebildet wird, überein. Das in den Gefäßen von Acacia decurrens beobachtete Gummi dürfte auch sicher in die gleiche Kategorie gehören, wie das Temmesche Wundgummi.

Daß dies Gummi aber aus den Bohrlöchern nicht mit ausgeschieden wird, konnte durch folgenden, wiederholt mit dem gleichen Erfolge angestellten Versuch nachgewiesen werden: Bei demselben wurde von einer Pflanze, die aus dem Bohrgange bereits Gummi ausgeschieden hatte, ober- oder unterhalb des Bohrloches der Stengel durchschnitten und an dem zurückbleibenden Stumpf bis zu etwa 1 cm unterhalb der Schnittfläche die Rinde entfernt und dann der Topf gut begossen und mit einer Glasglocke bedeckt. Aus dem Holz stammendes Gummi mußte dann offenbar an der oberen Schnittfläche hervortreten, während das aus der Rinde stammende Gummi 1 cm tiefer am oberen Ende der Rinde ausgeschieden werden mußte. In der Tat konnte ich denn auch bei diesen Versuchen schon nach wenigen Stunden aus der Rinde Gummitropfen austreten sehen. Ebenso traten allerdings wiederholt auch an der oberen Schnittfläche kleine Tropfen aus. Diese waren dann aber entweder ganz oder mindestens fast frei von Gummi. Sie hinterließen nämlich, als ich sie auf dem Objektträger eintrocknen ließ, einen kaum merklichen Rückstand, während die aus der Rinde ausgeschiedenen Kugeln beim Eintrocknen wenig an Volum verloren und zu normalen Gummikugeln erhärteten.

Es kann somit kein Zweifel darüber bestehen, daß das an den Bohrgängen ausgeschiedene Gummi — zum mindesten in den von mir beobachteten Fällen — lediglich aus der Rinde stammte und daß die in

den Gefäßen enthaltenen gummiartigen Massen zu der Gummiausscheidung nicht in Beziehung stehen.

Während nun aber das Rindengummi, wenn es in die Bohrgänge der Ambrosiakäfer eintritt, diesen das Leben in den Gängen unmöglich macht, wird durch das die Gefäße verstopfende Wundgummi die weitere Ausbreitung des Ambrosiapilzes verhindert. Ich habe wenigstens niemals beobachtet, daß das Mycel des Ambrosiapilzes die in den Gefäßen enthaltenen Gummipfropfen durchbrochen hätte. Rindengummi und Wundgummi verhindern also die Entwickelung von Ambrosiakäfern und Ambrosiapilz und können somit als Schutzmittel der Pflanze gegen diese beiden Organismen angesehen werden. Daß aber Rinden- und Wundgummi auch in den von den Ambrosiakäfern und Ambrosiapilzen befallenen Zweigen zur Entwickelung gelangen, dürfte in der Weise zu erklären sein, daß der Anreiz zur Bildung des Gummis mit der Ausdehnung der getöteten Teile des Zweiges immer mehr zunimmt, so daß schließlich die Gummibildung vollendet ist, bevor der Ambrosiapilz die betreffenden Teile des Zweiges abtöten konnte.

Allerdings wäre es auf alle Fälle sehr erwünscht, die Richtigkeit dieser Erklärung noch durch eine genaue Verfolgung der Entwickelung des Ambrosiapilzes in der lebenden Pflanze zu prüfen. Ich beabsichtige auch, diese Untersuchungen, sobald ich wieder über geeignetes Material verfüge, durch weitere Versuchsreihen zu ergänzen. Ebenso beabsichtige ich auch zu untersuchen, in welcher Weise durch andere Ursachen bei Acacia decurrens und auch bei anderen Acacia-Arten Gummibildung bewirkt wird, und hoffe, in nicht allzu ferner Zeit über diese Untersuchungen in dieser Zeitschrift berichten zu können.

Literatur.

1) Aderhold, R., Ueber Clasterosporium carpophilum und Beziehungen desselben zum Gummifluß des Steinobstes. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- und Forstw. a. k. Gesundheitsamt. Bd. II. 1902. Heft 5.)
2) Beijerinck, M. W. u. Rant, A., Wundreiz, Parasitismus und Gummifluß bei den Amygdaleen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 366.)
3) Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. 2. Aufl. Bd. III. Breslau 1896.
4) Hubbard, H. C., The Ambrosiabeetles of the United States. (U. S. Departm. of Agric. Div. of Entomol. Bull. No. 7. 1897. p. 9.)
5) Judeich, J. F. u. Nitsche, H., Lehrbuch der mitteleuropäischen Forstinsektenkunde. Bd. I. 1895.
6) Mikosch, K., Untersuchungen über die Entstehung des Kirschgummi. (Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. Bd. CXV. 1906. Abt. I. p. 911.)
7) Möller, A., Die Pilzgärten einiger südamerikanischer Ameisen. (Botan. Mitt. a. d. Tropen. Heft 6. Jena 1893.)
8) Nüsslin, O., Leitfaden der Forstinsektenkunde. Berlin 1905.
9) Ruhland, W., Zur Physiologie der Gummibildung bei den Amygdaleen. (Ber. d. D. bot. Ges. 1907. p. 302.)
10) Temme, Ueber Schutz- und Kernholz. (Landw. Jahrb. Bd. XIV. p. 465.)

Einfache Art der Mikrobenfärbung.

[Aus der Milchversuchsstation in Pilsen.]

Von **A. Rosam**, Vorstand der Versuchsstation.

Da das gewöhnliche Verfahren der Mikrobenfärbung eine ziemlich lange Prozedur erfordert und demzufolge bei Massenarbeit oder bei den

praktischen Uebungen der Schüler ziemlich viel Zeit raubt, wurde an der hiesigen Versuchsstation die Färbung dadurch vereinfacht, daß die Präparate direkt mit einer eigens hergestellten Farbe gefärbt werden. Zur direkten Färbung eignet sich am besten Methylenblau oder Mencels Gemisch, das sich aus 3/4 Safranin und 1/4 Methylenblau zusammensetzt. Die Farbe wird zuerst in Spiritus aufgelöst; diese konzentrierte Spirituslösung wird hierauf, um eine stark verdünnte Farbe zu erhalten, mit gleichen Mengen Wasser und Spiritus verdünnt. Schließlich werden 10 Proz. Ammoniak hinzugegeben. Der Ammoniak besitzt eine ätzende Wirkung und ermöglicht ein schnelles Eindringen der Farbe in die Mikroben. Bei der Färbung wird am besten ein Tropfen der Farbe auf den Objektträger aufgetragen und in die Farbe ein kleiner Teil des zu prüfenden Materials, das man vorher in Wasser verdünnt hat, eingetragen, gründlich durchgemischt, mit einem Deckglas zugedeckt und mikroskopiert. Die Mikroben erscheinen entweder blau oder bei Verwendung von Mencels Gemisch rotviolett.

Der Vorteil dieses Verfahrens besteht nicht allein darin, daß man rasch arbeiten und die Objektträger leicht reinigen kann, sondern auch darin, daß die Mikroben stark gefärbt erscheinen und daß man sogar das Differenzieren der einzelnen Mikroben beobachten kann. Der einzige Nachteil des geschilderten Verfahrens ist der, daß die Farbe nicht beständig ist und daß man sie nach einer oder zwei Wochen neu herstellen muß. Es ist daher auch nicht ratsam, größere Mengen der Farbe vorrätig zu haben. Eine beständige Farbe wird dadurch erzielt, daß man zwei kleine Fläschchen aneinanderklebt und das eine mit Ammoniak, das andere mit der genannten Farbe füllt. Jedes wird mit einem Stöpsel versehen, in den man ein Glasstäbchen eingebracht hat. In den Ammoniak kommt ein dünnes, in die Farbe ein dickeres Stäbchen. Bei der Färbung werden auf den Objektträger ein Tropfen Ammoniak und ein Tropfen der Farbe nebeneinander aufgetragen und nach Hinzugabe des Materials alles gründlich durchgemischt und mikroskopiert.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Landwirtschaftliches Laboratorium der Universität St. Wladimir zu Kiew.

Azotobacter chroococcum und seine Wirkung im Boden[1].

Von **A. Krainsky**, Assistent des Landw. Laborat.

Infolge der Untersuchungen vieler Forscher [Fischer[2]), Benecke und Keutner[3]), Reincke[4]), Keding[5]), Thiele[6]) u. A.] ist festgestellt worden, daß der von Beijerinck[7]) entdeckte Azotobacter

1) Originalarbeit im Journ. f. experim. Landw. 1908. Bd. II.
2) Journ. f. Landwirtsch. Bd. LIII. p. 61. 289.
3) Ber. der bot. Gesellsch. Bd. XXI. p. 333.
4) Ber. der bot. Gesellsch. Bd. XXI. p. 481.
5) Wiss. Meeresuntersuchung. Abt. Kiel. N. F. Bd. IX. p. 275.
6) Landw. Vers.-Stat. Bd. LXIII. p. 161.
7) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. p. 561; Bd. IX. p. 1.

chroococcum auf der Erde sehr verbreitet ist. Mir gelang es, diesen Organismus aus verschiedenen Böden Rußlands zu isolieren. Es waren Ton- und Lehmböden mit verschiedenem CaO-Gehalt und Tschernosemen aus den Gouvernements Poltawa, Tschernigow, Kiew und Cherson. Einige von diesen Böden, z. B. der Lehmboden des Osterschen Kreises des Gouvernements Tschernigow oder der Tschernosem aus dem Gouvernement Cherson, wurden 3—5 Jahre vor dem Beginn der Untersuchungen im Laboratorium in verschlossenen Zinkgefäßen in lufttrockenem Zustande aufbewahrt.

Um den Organismus zu isolieren, bereitete ich folgende Nährböden:

a) Flüssige Nährböden: H_2O = 100
K_2HPO_4 = 0,05
NaCl = 0,05
$CaCO_3$ = 0,05
$FeSO_4$ = Spuren
Mannit = 1—2

b) Feste Nährböden: Mannitlösung 100
Agar-Agar = 2

Die Eigenschaften der Kolonieen des Azotobacters erwiesen sich als denjenigen analog, die von Beijerinck, Gerlach und Vogel[1]) und Freudenreich[2]) beschrieben worden sind. Ebenso sind die morphologischen Eigenschaften des Azotobacters mit denselben identisch, wie das bei seiner Vergleichung mit Fischers[3]) Photogrammen sich offenbart.

Der Organismus entwickelte sich außer auf den von mir angezeigten Nährböden auf Mannitgelatine, wobei er dieselbe nicht verflüssigte. Sehr gut gelangen die Versuche mit Gipsblockkulturen in Wasser-Mannitlösung, wobei der Azotobacter im Laufe von 6 Wochen 9,6 mg N aufnahm. Die Bodenextrakt-Mannitlösung von Löhnis[4]) erwies sich nach meinen Versuchen weniger geeignet als die Wasser-Mannitlösung, wie folgende Ziffern zeigen.

Die reinen Kulturen des Azotobacter nahmen im Laufe von 6 Wochen folgende Quantität des N, in Milligrammen ausgedrückt, auf:

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5	Versuch 6	Mittelwert
In Löhnisschem Nährboden	0	1,0	2,1	4,2	3,6	5,8	2,8
In Wasser-Mannitlösung	1,5	4,4	11,2	4,9	3,9	9,0	5,8

Die morphologischen Eigenschaften des Azotobacter können, wie Fischer und einige andere Forscher bewiesen, sich stark verändern; eine solche Veränderlichkeit offenbarte auch der von mir isolierte Organismus.

Veränderung der Größe. Größere Stäbchen des Azotobacter, deren Abmessungen nach Beijerinck 2—5 μ in der Länge

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 669.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. p. 514.
3) Verh. d. nat. Ver. der Provinz Rheinland, Westfalen u. d. Reg.-Bez. Osnabrück. Bd. LXII. p. 135.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. p. 464.
5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XII. p. 57; Bd. XIV. p. 79; Landw. Jahrb. Bd. XXXV. p. 889.

und 3—4 μ in der Breite ausmachen, erwiesen sich oft bedeutend kleiner, ihr Durchmesser kann 1 μ betragen. In unreinen Kulturen konnte ich manchmal lange, fadenartige Zellen beobachten, die wahrscheinlich involutive Formen darstellen.

Veränderung der Form. Die Grundform des Azotobacter ist ein Stäbchen mit abgerundeten Enden. Bei einigen Bedingungen wird das Stäbchen dicker und nimmt die Form eines Coccus (am häufigsten des Diplococcus) an. Heinze[1]) beobachtete bei einigen Versuchen Bakteroidformen, die an die Bakteroiden der Leguminosen erinnerten. Mir aber gelang es nicht, die Bildung von Bakteroiden in dem von mir isolierten Azotobacter hervorzurufen.

Veränderung der Membran. Hauptsächlich Beijerinck und dann auch Fischer beobachteten, daß der Azotobacter von einer Membran, deren Dimensionen sich verändern können, umgeben ist. Sie färbt sich gut mit Methylenblau, Gentianaviolett, am besten aber mit Ribbertscher Farbe. Oft verschwindet die Zellmembran, manchmal aber bildet sie eine kompakte Schleimmasse, in der meistenteils Diplokokken des Azotobacter verteilt sind.

Die Gruppierungsweise der Zellen. Die Zellen des Azotobacter können sich in der Form von Diplokokken, Streptokokken, Plättchen und Sarcinen verbinden, wie das schon Fischer gezeigt hat. Alle diese Formen beobachtete auch ich.

Um den Einfluß der Lebensbedingungen des Organismus auf die Veränderung der Eigenschaften seiner Kolonieen und Zellen zu ergründen, unternahm ich Untersuchungen über seine Veränderlichkeit, wobei ich jedesmal die Form der Zellen, ihre Größe, Beweglichkeit, die Membranentwickelung und die Gruppierungsweise der Zellen anmerkte.

Der Einfluß des Alters. Die Gestalt der Kolonieen verändert sich in Abhängigkeit vom Alter derselben; es erscheint ein schwarzes Pigment und die früher konvexe Form der Kolonie wird verschwommen. Eine solche Veränderung beginnt am 4.—5. Tage auf Mannitagar. Die Zellen der 2—3-tägigen Kultur haben die Form von Stäbchen mit abgerundeten Enden und sind meistenteils paarweise verbunden; die 7-tägigen Kulturen bestehen aus kürzeren, in Kokken von 2—4 μ im Durchmesser übergehende Stäbchen; diese Kokken verbinden sich zu Diplokokken oder kurzen Kettchen. Die stark entwickelte Membran der 3-tägigen Kultur verschwindet am 6.—7. Tage. In alten Kulturen verschwindet die Membran vollständig, die Kokken vermindern sich, verbinden sich zu Zooglöen und seltener zu kurzen, aus 5—7 Zellen bestehenden Kettchen. In flüssigen Nährlösungen finden die gleichen Veränderungen statt, aber die Entwickelungsperiode dauert länger; die Pigmentbildung beginnt zu Anfang der 4. Woche, worauf sich die Zellen allmählich ebenso wie auf Mannitagar verändern.

Der Einfluß der Nährsubstanz. Freudenreich bewies, daß Azotobacter den N am besten auf Gips aufnimmt. Das Pigment bildet sich nach meinen Versuchen auf dem Gipse schon am 3.—4. Tage. Die Zellen vergrößern sich im Durchmesser, nehmen eine kugelige Form an und resorbieren in höherem Grade die Farben; die Membranen erhalten sich auf dem Gipse länger ganz. Da die Zugabe von Gips zu flüssigen Nährlösungen keine solchen Veränderungen hervorruft, so muß man annehmen, daß sie von dem reichlichen Sauerstoffzutritt abhängig sind.

Die Größe der Zellen ist in flüssigen Kulturen immer ein wenig

geringer als in festen. Wenn man Mannit in flüssigen Nährböden durch Calciumsalze von Essig- oder Citronensäure ersetzt, so verschwindet die Zellenmembran und es erscheinen fadenartige Zellen mit Anschwellungen. In Nährlösungen, die Aethylalkohol an Stelle des Mannits enthalten, erscheint am 4.—5. Tage ein sehr zartes Häutchen; die Zellen verkleinern sich bedeutend, indem sie sich im Durchmesser bis zu 0,5—1 μ vermindern. Sie sammeln sich zu langen, bis zu 20 Zellen enthaltenden Streptokokken, die in eine allgemeine Schleimkapsel eingeschlossen sind, wobei sich oft in ein und derselben Kapsel 2 oder 3 Kettchen nebeneinander hinziehen.

Mit dem von mir isolierten Azotobacter unternahm ich Untersuchungen über seine Atmungsenergie; zu diesem Zwecke wurde von CO_2 freie Luft in ununterbrochenem Zuge über die flüssige Nährlösung durchgezogen; darauf passierte diese Luft konzentrierte H_2SO_4 und Chlorcalcium und wurde sodann die CO_2 in U-förmig gebogenen Röhrchen, die mit Natronkalk gefüllt waren, aufgefangen; diese Röhrchen wurden jeden 3. Tag gewogen. In folgender Tabelle I sind die Resultate dieser Versuche angeführt:

Tabelle I.
Die Menge der ausgeatmeten CO_2 in Gramm, bei 30° C.

Tage	I. Kolben Frische Kultur	II. Kolben Frische Kultur	Alte Kultur
3	0,0120	0,0331	0,0331
6	0,0289	0,0480	0,0428
9	0,0311	0,0591	0,0517
12	0,0965	0,0549	0,0874
15	0,1404	0,1182	0,1169
18	0,2644	0,1895	0,1088
21	0,4193	0,2664	0,1524
24	0,4323	0,3997	0,1765
27	0,3992	0,3971	0,2056
30	0,3219	0,3802	0,3047
33	0,2661	0,3534	0,3279
36	0,1182	0,0793	0,4161
39	0,0362	0,0218	0,1217
42	0,0246	0,0174	0,0828
45	0,0214	—	0,0442
Gesamtmenge	2,6125	2,4181	2,2666

Die Atmungskurve der frischen Azotobacter-Kultur zeigt, daß im Laufe der ersten 10 Tage nur eine schwache Absonderung der CO_2 zu bemerken ist; darauf beginnt eine Hebung der Ausscheidungsenergie, das Maximum beginnt am 21.—24. Tage und dauert 6—9 Tage; sodann nimmt die Intensität der Ausscheidung schnell ab bis zum 40. Tage; nachdem vermindert sie sich allmählich. Die Atmungskurve der alten Azotobacter-Kultur ist zuerst der Atmungskurve der frischen Kultur ähnlich, aber das Maximum tritt erst am 36. Tage ein, worauf sogleich eine rasche Verminderung der Atmungsenergie beginnt, die ihren Ausdruck in starker Neigung der Atmungskurve findet. Folglich können wir in alten Kulturen eine Verkürzung der Periode der maximalen Atmungsenergie beobachten. Diese Periode beginnt in alten Kulturen 2 Wochen später als in frisch isolierten.

Stoklasa[1]) beobachtete schon früher den Atmungsprozeß des

1) Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV. p. 22.

Azotobacter und fand, daß die maximale Ausscheidung der CO_2 schon am 4. Tage begann und bis zum 10. Tage dauerte. Stoklasa bediente sich bei seinen Versuchen der Fernbach-Kolben, in denen die Flüssigkeit sich in sehr dünner Schicht verbreitet. Bei solchen Bedingungen werden die Kulturen sehr gut aëriert und die Bedingungen der aktiven Lebenstätigkeit werden den Entwickelungsbedingungen des Organismus in festen Nährböden ähnlich, in letzteren erscheint das Pigment, wie das aus der Beschreibung ersichtlich ist, schon am 3. bis 4. Tage, in flüssigen Nährlösungen erscheint es erst am 21.—24. Tage.

Schon viele Forscher, z. B. Gerlach und Vogel[1]) und auch Heinze, wiesen auf die Virulenzschwächung der reinen Azotobacter-Kultur hin, da die alten Kulturen sich schlechter entwickelten und weniger N aufnahmen. Die Atmungskurve der alten Kultur unterscheidet sich, wie wir sehen, von derjenigen der frisch isolierten; ebenso nahmen auch die 2 Monate alten Kulturen bei meinen Versuchen weniger N als frische auf, wie das die folgenden Ergebnisse zeigen.

Ich versuchte, die Virulenz der Kultur zu erhöhen, indem ich dieselbe durch Gipsplatten passierte, erhielt aber negative Resultate.

Tabelle II.
Die Zunahme von N in Milligramm in 6 Wochen, bei 30° C.

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Mittelwert
Alte Kultur	3,5	3,8	4,2	2,0	**3,37**
Frische Kultur	9,0	11,2	4,9	5,8	**7,72**
Kultur von Gipsplatte	3,8	3,9	5,4	3,5	**3,9**

Dergleichen negative Resultate erhielt ich auch beim Passieren der Kultur durch Gipskreideplatten, Bodengipsplatten und Bodengipskreideplatten.

Der Entwickelungscyklus der reinen Azotobacter-Kultur dauert, wie die Atmungskurve zeigt, nicht weniger als 40 Tage. Man muß vermuten, daß die N-Aufnahme durch die reine Kultur während der maximalen Atmungsenergie stattfindet. Um diese Vermutung zu prüfen, bestimmte ich die Quantität des aufgenommenen N zu verschiedenen Fristen, mit der 7-tägigen Frist beginnend. Weil verschiedene Kulturen, wie bekannt, ungleiche Quantitäten des N aufnehmen, sogar wenn sie unter gleichartigen Bedingungen sich entwickeln, wiederholte ich diese Versuche 6mal. Um möglichst mit den gleichen Quantitäten des Infektionsmaterials zu operieren, infizierte ich viele Kolben gleichzeitig, wobei ich die reine Kultur mit einem Platindrähtchen von Mannitagar in ein steriles Probierglas mit Leitungswasser einführte. Das Probierglas wurde bis zum Verschwinden der Flocken geschüttelt; darauf verteilte ich in jeden Kolben 1 ccm der durchgeschüttelten Kultur, eine sterilisierte Pipette dabei benutzend. Jede Woche nahm ich 3 Kolben zur Analyse. Die Kultur wurde unter dem Mikroskop untersucht und dann aus derselben eine Plattenkultur auf Mannitagar bereitet; darauf wurde die Quantität des N nach Kieldal bestimmt. Alle Kolben, bei denen die Reinheit der Kultur Zweifel erregen konnte, wurden nicht in Betracht gezogen (siehe Tab. III).

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 636.

Tabelle III.
Die N-Quantität in Milligramm, bei 30° C.

Woche	Serie I	Serie II	Serie III	Serie IV	Serie V	Serie VI	Mittelwert
1	1,3	—	0,2	0,3	0,2	0,6	0,43
2	1,2	1,0	1,2	1,2	0,5	3,3	1,4
3	0,2	1,7	1,2	1,5	3,6	—	1,64
4	1,0	1,3	1,45	3,9	5,0	—	2,53
5	1,4	2,8	2,3	5,7	—	—	3,05
6	3,9	2,9	2,1	1,6	7,4	—	3,58
7	2,7	4,1	—	—	—	—	3,4

Wir sehen, daß die N-Aufnahme in der reinen Kultur schon im Laufe der ersten Tage ihrer Entwickelung beginnt, sie verstärkt sich im Laufe der 2. Woche und erfolgt dann ziemlich gleichmäßig im Laufe der ganzen, 6 Wochen dauernden Entwickelungsperiode des Organismus. Bei der Kurve der N-Aufnahme macht sich die Steigung, durch welche sich die Atmungskurve auszeichnet, nicht bemerkbar.

Zur Verbindung einer Gewichtseinheit des Stickstoffes sind, nach Gerlach und Vogels Ergebnissen, 1000 Gewichtsteile des Zuckers, nach Stoklasa 165 solche Teile erforderlich. Beim Vergleichen der Kurve der N-Aufnahme mit der Atmungskurve des Azotobacter bemerken wir, daß das Verhältnis zwischen der Atmungsenergie und der Energie der N-Aufnahme in verschiedenen Perioden ungleich ist. Im Laufe der 1. Woche, wenn die Organismen sich zu vermehren beginnen und im ganzen nur 50 mg des CO_2 ausgeschieden haben, nahmen sie schon durchschnittlich ungefähr 0,5 mg N auf. Darauf wird, infolge der zunehmenden Vermehrung der Organismen, die Quantität der abgesonderten CO_2 immer größer, unterdessen bleibt die Quantität des aufgenommenen N durchschnittlich 0,5 mg, im Laufe der Woche gleich. Diese Erscheinung kann wahrscheinlich in dem Umstande ihre Erklärung finden, daß die über der Kultur sich ansammelnde Kohlensäure das normale Funktionieren des Organismus verhindert. Wenn man die erst wöchige Entwickelungsperiode des Organismus in Betracht zieht, so sehen wir, daß auf jede Einheit des aufgenommenen Stickstoffes Azotobacter 100 Gewichtsteile der CO_2 ausgeschieden hat, was 30 Gewichtseinheiten des C entspricht.

Meine Untersuchungen über die reinen Kulturen des Azotobacter, ebenso auch wie die Arbeiten anderer Forscher, besonders aber die Untersuchungen von Stoklasa, beweisen, daß dieser Organismus in hohem Grade ökonomisch arbeitet, da er zur Verbindung jeder Gewichtseinheit des N nur ungefähr 30 Gewichtseinheiten des C verbrennt. Diese Eigenschaft des Azotobacter ist bei der Beurteilung seiner Wirkungsweise im Boden, meiner Ansicht nach, von großer Wichtigkeit. Der größte Teil der Forscher, die die N-Aufnahmebedingungen im Boden in der letzten Zeit untersucht haben, schreibt diesen Prozeß hauptsächlich der Wirkung von Azotobacter zu. Wir wissen jedoch, daß es außer dem Azotobacter noch eine Menge stickstoffsammelnder Organismen gibt, wie z. B. das anaërobe Clostridium Pasteurianum von Winogradsky[1]) und die Schimmelpilze, die von Ch. Terletz[2]) beschrieben wurden, Aspergillus niger nach den Untersuchungen von Puriewitsch[3]) und sodann aërobe Bakterien, die von Löhnis[4]),

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. p. 43.
2) Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XXI. p. 267.
3) Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XIII.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. p. 593; Bd. XIX. p. 87.

Volpino[1]), Kaserer[2]) und Perotti[3]) beschrieben wurden. Diese Entdeckungen geben, wie mir scheint, genügende Veranlassung dazu, die Lösung der Frage, ob dem Azotobacter wirklich immer die Hauptrolle bei dem Stickstoffanreicherungsprozesse der Böden zufällt, zu unternehmen. Die Untersuchungen von Löhnis sprechen, wie es scheint, gegen diese Vermutung. Dennoch aber bestätigt die Leichtigkeit, mit der es gelingt, die Azotobacter-Haut zu erhalten, seine Verbreitung auf der Erdkugel und die ökonomische Arbeitsweise dieses Organismus die Vermutung, daß Azotobacter in den meisten Fällen wirklich die Hauptrolle in der Reihe der im Boden N-sammelnden Organismen spielt. In dieser Hinsicht ist es besonders wichtig, die Oekonomie seiner Arbeit in reiner Kultur und im Boden zu vergleichen.

Zuerst aber ist es interessant, die Frage, welche kohlenstoffhaltige Bodensubstanzen die Nährstoffe des Azotobacter bilden, zu beantworten. Hinsichtlich dieser Frage sind jedoch nur theoretische Erwägungen verschiedener Autoren, aber nur wenige Versuche vorhanden. Die theoretischen Erwägungen über diese Frage erlauben es bis jetzt aber auch noch nicht, auf dieselbe eine richtige Antwort zu geben, da noch viel zu wenig Versuche über den Einfluß verschiedener kohlenstoffhaltiger Nährstoffe auf die reine Kultur dieses Organismus in Ausführung gebracht wurden. Beijerinck wies schon darauf hin, daß Azotobacter sich von verschiedenen Substanzen, wie Mannit, Glukose, Lävulose, Galaktose, Rohzucker, Maltose, Propionsäure und anderen ernähren kann. Gerlach und Vogel verglichen die Wirkung des Traubenzuckers mit derjenigen der Propionsäure und fanden, daß der Traubenzucker vom Azotobacter besser als die Propionsäure ausgenutzt wird. Hinsichtlich der Frage über den in Vergleich kommenden Nährwert des Mannits und der Glukose sind einige Ergebnisse in den Untersuchungen von Freudenreich, Ashby, Thiele und Stoklasa angeführt, aber in den Resultaten ihrer Versuche machen sich Meinungsverschiedenheiten geltend. Heinze unterwarf verschiedenene Nährstoffe einer Prüfung, aber seine Versuche geben keinen Anhaltspunkt, um die Frage, wie gut Azotobacter den N bei verschiedenen Nährstoffen aufnimmt, zu beantworten. Infolge des Mangels solcher Ergebnisse verglich ich die N-Aufnahme einer reinen Azotobacter-Kultur in Nährlösungen mit verschiedenen kohlenstoffhaltigen Nährstoffen. In Tabelle IV sind die Resultate dieser Versuche angeführt.

Tabelle IV.
Die N-Aufnahme in Milligramm mit reiner Azotobacter-Kultur infizierter Nährlösungen, 4 Wochen bei 30° C.

1 g auf 100 Teile der Lösung	1	2	durchschnittl.	1 g auf 100 Teile der Lösung	1	2	durchschnittl.
Calciumacetat	3,0	3,4	3,2	Maltose	2,5	3,1	2,8
Calciumpropionat	0	0	0	Dextrin	1,3	1,1	1,2
Calciumcitrat	1,6	—	1,6	Inulin	7,0	4,6	5,8
Arabinose	0,8	0,4	0,6	Stärke	0,4	—	0,4
Lävulose	6,0	4,1	5,55	Methylalkohol	0	0	0
Dextrose	1,1	1,6	1,35	Aethylalkohol	0,6	1,4	1,0
Galaktose	0,9	0,45	0,67	Glycerin	1,8	3,0	2,4
Rohzucker	0	—	0	Mannit	4,6	6,8	5,7
Milchzucker	0,8	—	0,8	Erytrit	0	0	0

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. p. 70.
2) Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. X. Heft 1. p. 37.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. p. 523.

Diese Versuche zeigen also, daß von allen geprüften Stoffen Azotobacter das N in Mannit-, Inulin- und Lävulosenährlösungen am besten aufnahm und von Säuren die Essigsäure am besten ausnutzte. Azotobacter kann sich, wie ersichtlich, von verschiedenen kohlenstoffhaltigen Verbindungen ernähren; man kann daher den Schluß ziehen, daß Azotobacter im Boden immer genügende und passende Nahrung finden wird und daß dieser Faktor wohl kaum im Minimum auftritt.

Heinze äußerte die Vermutung, daß Azotobacter sich im Boden von Pektinstoffen ernährt. In meinen Versuchen aber, beim Nähren des Azotobacter mit Arabinose und Galaktose, die die Hauptprodukte des hydrolytischen Zerfalles der Pektinstoffe bilden, entwickelte sich derselbe schwach und nahm nur in geringem Grade N auf, was wider die Anwendbarkeit von Heinzes Vermutung zu dem von mir ausgeschiedenen Azotobacter spricht.

Wie in der letzten Zeit Schneider[1]) und A. Koch[2]) gezeigt hatten, kann die Aktivität des Azotobacter im Boden durch die Zugabe von kohlenstoffhaltigen Nährstoffen, wie z. B. Mannit oder Glukose, in einem solchen Grade gesteigert werden, daß man eine bedeutende N-Zunahme erreichen kann.

Aus den übrigen Lebensbedingungen der N-sammelnden Organismen im Boden studierte ich den Einfluß der Feuchtigkeit. Ich benutzte zu diesem Zwecke zwei Böden verschiedener Zusammensetzung, einen Tschernosem aus den Umgebungen der Station Jagotin der Eisenbahn Kiew-Poltawa und einen Lehmboden aus dem Osterschen Kreise des Tschernigower Gouvernements. Der erste Boden enthielt 0,159 Proz. N und quoll in geringem Grade bei dem Begießen mit Säure auf, der zweite, an Nährstoffen arme Boden enthielt 0,09 Proz. CaO.

Schwaches Benetzen mit destilliertem Wasser des Bodens aus Jagotin eine Woche vor dem Versuche, hatte die Verstärkung der Stickstoffassimilationskraft, die nach Remys Methode bestimmt wurde, zur Folge; bei stärkerer Befeuchtung verminderte sich die Stickstoffassimilationskraft. Dieser Versuch wurde in sterilisierten Erlenmeyer-Kolben ausgeführt, wozu in dieselben ungefähr 20 g des Bodens eingeschüttet wurden, worauf dieser Boden dann befeuchtet wurde. Zur Bestimmung der Stickstoffassimilationskraft goß ich in diese Kolben 200 ccm sterilisierte 2-proz. Mannitlösung zu. Die Resultate des Versuches sind in Tabelle V angeführt.

Tabelle V.

Die stickstoffsammelnde Kraft der Jagotinboden, 6 Wochen bei 30° C.

	Bodenquantität in Gramm	Eingeführtes Wasser in ccm	Entsprechend		N-Zunahme in mg	Durchschnitt
1	19,9256	—	Lufttrocken		11,5	10,85
2	19,9576	—	"		10,2	
3	19,8284	1	5 Proz. (unbenutztes Wasser)	Nach Prof. Bogdanows Methode bestimmt	15,3	16,1
4	19,9742	1	5 " (" ")		16,9	
5	19,7999	2	10 Proz. (1/2 opt. Feucht.)		2,5	9,25
6	20,3259	2	10 " (1/2 " ")		16,0	
7	22.7003	3	15 " (8/4 " ")		19,5	18,8
8	19,8528	3	15 " (8/4 " ")		18,1	
9	20,1927	4	20 " (" ")		14,6	13,9
10	19,9257	4	20 " (" ")		13,2	

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. p. 318.
2) Bied. Centralbl. Bd. XXXVI. p. 676.

Nur in dem Kolben 5 ist eine geringe N-Zunahme erhalten worden, was wahrscheinlich durch Zufall erklärt werden kann.

Mit demselben Boden brachte ich noch folgende Versuche zur Ausführung: 500 g des Bodens wurden mit destilliertem Wasser vermengt; die befeuchtete Erde wurde in einem Teller, der mit einem anderen umgekippten bedeckt wurde, gelegt. Die Teller wurden gewogen und in 30° Thermostaten gestellt. Alle 3 Tage wurden sie durch Zugabe von destilliertem Wasser bis zu einem beständigen Gewicht gebracht. Die Wasserzugabe veränderte sich den verschiedenen Feuchtigkeitsgraden, die nach der Methode des Prof. Bogdanow bestimmt wurden, entsprechend, nämlich — dem Maximum der Hygroskopie, „dem unbenutzten Wasser", der $^1/_2$ Optimalfeuchtigkeit, der Optimalfeuchtigkeit und der maximalen Wasserkapazität. Nach Verlauf von einem Monat wurden aus allen diesen Tellern Proben zur Bestimmung des Feuchtigkeitsgrades und der Stickstoffassimilationskraft in 100 ccm 1-proz. Mannitlösung entnommen.

Tabelle VI.
Die Stickstoffassimilationskraft der Jagitenböden bei verschiedener Feuchtigkeit.

	Wasserzugabe in ccm	Entsprechend	1. Bestimmung	2. Bestimmung	Durchschnittlich	Feuchtigkeitsgrad am Ende der Versuche in %
1	—	Lufttrocken	+ 2,7	+ 2	+ 2,35	0,81
2	11	Max. Hygrosk.	+ 1,9	+ 3,6	+ 2,75	2,41
3	31	Unbenutztes Wasser	+ 5,4	+ 6,1	+ 5,75	3,24
4	43	$^1/_2$ opt. Feucht.	+ 5,1	+ 4,9	+ 5,0	7,57
5	96	Opt. Feucht.	+ 1,6	+ 0,5	+ 1,05	12,97
6	171	Max. Kapazit.	+ 0	— 0,8	— 0,4	22,35

Diese Serie der Versuche, ebenso wie die erste, zeigt, daß geringe Bodenfeuchtigkeit den Entwickelungsprozeß der N-sammelnden Organismen befördert.

Die nächstfolgenden Untersuchungen über den Einfluß der Feuchtigkeit auf den N-sammelnden Organismen machte ich mit dem Lehmboden des Osterschen Kreises. Außer der Bestimmung der Stickstoffassimilationskraft unternahm ich dabei die Bestimmung der Quantität des N. Infolgedessen, daß, wie bekannt, der Boden eine ungleichartige Masse bildet, zerkleinerte ich denselben in einem hölzernen Mörser und vermischte ihn so lange, bis der Boden eine in solchem Grade homogene Masse darstellte, daß die Bestimmung des N nach Kjeldal in vier Proben folgende Ziffern gab: 1) 0,088 Proz., 2) 0,089 Proz., 3) 0,088 Proz., 4) 0,090 Proz.

100 g eines solchen Bodens wurden mit einer bestimmten Quantität destillierten Wassers vermischt und in Glasgefäße (deren Bodendurchmesser 12 cm und die Höhe 27 cm ausmachte) geschüttet. In der Mitte des Gefäßbodens wurden kleine Gläschen mit 10-proz. NaOH-Lösung aufgestellt, um die aus dem Boden sich aussondernde CO_2 zu resorbieren, damit sie den freien Luftzutritt nicht verhinderte. Die verpfropften Gefäße wurden im Zimmer in einiger Entfernung vom Fenster aufgestellt. Genau nach 3 Monaten wurden die Versuche eingestellt. Es wurden Proben zur Bestimmung der Feuchtigkeit, der N-Quantität und des Humus entnommen. Der übrige Teil des Bodens wurde zur Ermittelung

der Stickstoffassimilationskraft benutzt, wozu in die Gefäße 100 ccm sterilisierten Wassers zugegossen wurde, darauf wurden die Gefäße so lange durchgeschüttelt, bis sich eine gleichmäßige Masse bildete. 20 ccm dieser Masse entnahm ich mit einer sterilisierten Pipette ohne Spitze und trug sie in 100 ccm 1-proz. sterilisierter Mannitlösung über. 20 ccm der Bodenmasse wurden in Kjeldal-Kolben zur Ermittelung der N-Quantität geschüttet; solcher Proben nahm ich zwei. Ebenso wie im vorigen Versuche wurde das Wasser in Quantitäten, die der 1/2 Optimalfeuchtigkeit, der Optimalfeuchtigkeit, der maximalen Wasserkapazität und 1 1/2 Maximalkapazität entsprachen, zugegeben. In einem von den Gefäßen war der Boden nicht befeuchtet, aber über demselben wurde ein benetztes Wattestückchen aufgehängt (siehe Tabelle VII).

Tabelle VII.

Veränderung des Stickstoff- und Humusgehaltes im Boden bei verschiedenen Feuchtigkeitsgraden.

Feuchtigkeitsgrad in Proz. trockenen Bodens		N in Proz. trockenen Bodens			N-Zunahme in Proz. trockenen Bodens	Humusgehalt in Proz. trockenen Bodens			Humusabnahme in Proz. der Initialhumusquantität	N-Gehalt in 100 Teilen Humus	Relative N-Zunahme im Humus, die als Resultat des Humusoxydationsprozesses sich ergibt	Absolute N-Zunahme im Humus	N-Assimilationskraft in mg			Unterschied der Stickstoffassimilationskraft
Vor dem Versuch	Am Ende des Versuchs	1. Bestimmung	2. Bestimmung	Mittelwert		1. Bestimmung	2. Bestimmung	Mittelwert					1. Bestimmung	2. Bestimmung	Mittelwert	
Lufttrocken 0,623	0,623	0,088	0,089	0,088	—	2,24	2,28	2,23	—	3,49	—	—	+1,2	+0,3	+0,75	—
Benetzte Watte	2,914	0,101	0,102	0,101	0,013	2,05	2,02	2,03	91,14	4,95	3,82	1,13	—3,2	—4,7	—3,95	—4,7
8 ccm Wasser 1/2 opt. Feucht.	5,212	0,102	0,097	0,099	0,011	2,02	1,99	2,00	89,84	4,93	3,88	1,05	+7,2	+7,9	+7,5	+6,8
16 ccm Wasser Opt. Feucht.	10,352	0,094	0,097	0,095	0,007	1,99	1,91	1,95	87,38	4,86	3,99	0,87	+6,8	+5,9	+6,3	+5,6
25 ccm Wasser Max. Kapazit.	19,399	0,092	0,089	0,091	0,003	1,79	1,73	1,76	78,97	5,15	4,42	0,73	+2,1	+3,3	+2,7	+1,95
40 ccm Wasser 1 1/2 max. Kapaz.	23,432	0,088	0,089	0,088	0	1,94	1,94	1,94	86,80	4,52	4,01	0,51	+1,3	—2,7	—0,7	—1,45

Wie die Tabelle zeigt, verminderte sich überall der Feuchtigkeitsgrad, da das Wasser durch die Pfropfen verdunstete. Die Bestimmung der N-Quantität zeigte, daß fast in allen Fällen die Quantität desselben sich vergrößerte. Die Vergrößerung des Stickstoffgehaltes in den Böden kann jedoch relativ die Folge des Gewichtsverlustes der Böden sein, der als Folge der Humusoxydation sich geltend macht; aus diesem Grunde unternahm ich die Definition des Humusbestandes im Boden. Außerdem erweisen sich die Versuchsresultate viel anschaulicher, wenn man den Stickstoffgehalt auf jede 100 Humusteile überrechnet. In der Tat beobachteten wir beim Versuche mit der benetzten Watte, daß der Boden 2,91 Proz. der Feuchtigkeit enthielt und die N-Quantität sich in demselben auf 0,013 Proz. gehoben hatte. Der Humusbestand in diesem Böden ist so gering, daß die Veränderung seiner Quantität keinen Einfluß auf die Versuchsresultate ausübt. In Böden jedoch, die sich durch

reichen Humusbestand kennzeichnen, kann die Verminderung des Humus ohne Zweifel die relative Stickstoffanreicherung des Bodens zur Folge haben. Wenn wir die Humusquantitäten in Betracht ziehen, so werden wir bemerken, daß auch bei diesem Versuch die Quantität desselben sich auf 0,2 Proz. vermindert hat, was darauf hinweist, daß bei diesen Bedingungen die mikrobiologischen Prozesse im Boden ziemlich energisch auftreten. Vor dem Beginn des Versuches enthielten jede 100 Humusteile 3,49 N-Teile; die Quantität des Humus hat sich jedoch jetzt vermindert, und also vollzog sich die relative Stickstoffanreicherung des Humus, die 3,82 gleich ist. Die Analyse zeigt aber, daß die Quantität des Stickstoffes beim Rechnen auf 100 Humusteile 4,95 gleich ist. Die Differenz, d. h. 1,13, stellt die absolute Stickstoffzunahme in 100 Humusteilen dar. Die Versuche zeigen also, daß die maximale absolute Stickstoffanreicherung des Humus bei geringer Feuchtigkeit, die 2,91 Proz. ausmacht, in einem mit Wasserdämpfen gesättigten Raume stattfand. Bei der darauf folgenden Steigerung der Bodenfeuchtigkeit erwies sich die Quantität des aufgenommenen Stickstoffes, wie wir sehen, um so weniger, je höher der Feuchtigkeitsgrad steigt. Wie die Bestimmung der absoluten Stickstoffanreicherung des Humus zeigt, findet die Stickstoffaufnahme im Boden bei allen Feuchtigkeitsgraden, sogar bei 23,43 Proz. Feuchtigkeit statt. In diesem Falle ist sie allerdings gering. In den letzten Tabellenreihen finden wir Ergebnisse zur Beurteilung der stickstoffsammelnden Kraft. Nur durch Zufall kann der Stickstoffverlust beim Versuche mit der maximalen Hygroskopie erklärt werden, da wir in den übrigen Fällen eine volle Analogie zwischen den Ergebnissen der Analyse und der Stickstoffassimilationskraft, die sich auch bei der Steigerung der Bodenfeuchtigkeit vermindert, beobachten.

Meine Versuche bringen mich also zu dem Schlusse, daß geringe Feuchtigkeit den Stickstoffaufnahmeprozeß befördert, bei der Steigerung des Feuchtigkeitsgrades aber dieser Prozeß unterdrückt wird.

Diese Resultate können auf zweierlei Weise erklärt werden, oder dadurch, daß es besondere Trockenheit vorziehende stickstoffsammelnde Mikroorganismen gibt, oder von dem Standpunkte ausgehend, daß die gewöhnlichen, stickstoffsammelnden Organismen sich nach der Dürre des Nährbodens richten. Diese zweite Vermutung ist, nach meiner Ansicht, wahrscheinlicher. Wie bekannt, ist der Azotobacter ein im hohen Grade aërophiler Organismus und zeichnet sich durch ungeheuere Stabilität gegen Austrocknen aus. Man kann annehmen, daß er sich mit Feuchtigkeitsmangel befriedigt, wenn er nur reichlichen Luftzutritt hat. Außerdem kann man noch die Vermutung aussprechen, daß dieser resistable Organismus bei schwacher Befeuchtung des Bodens sich zuerst zum Leben fähig erweist, zu der Zeit, da die übrigen physiologischen Mikroorganismengruppen noch nicht imstande sind, sich zu entwickeln. Bei Hebung des Feuchtigkeitsgrades erwachen diese letzteren auch zum Leben und unterdrücken bei ihrem Entwickeln die Tätigkeit des Azotobacter, der aber sogar bei sehr hohem Feuchtigkeitsgrade des Bodens fortfährt, schwach zu arbeiten, indem er sich wahrscheinlich nur auf der Oberfläche des Bodens entwickelt.

In der neuesten Literatur fand ich keine Andeutungen für die Tatsache, daß der Aufnahmeprozeß des atmosphärischen Stickstoffes im Boden am besten bei geringem Feuchtigkeitsgrade verfließt. Ber-

thelot[1]) allein, der früher als alle Forscher bewies, daß die Stickstoffanreicherung des Bodens als Resultat der aktiven Tätigkeit der Mikroorganismen, die Stickstoff aus der Atmosphäre resorbieren, betrachtet werden muß, bemerkte, daß dieser Prozeß bei geringer Feuchtigkeit, die sich bis 2—3 Proz. vermindern kann, stattfindet.

Es bleibt uns nur noch übrig, die Arbeitsökonomie des Azotobacter in reiner Kultur mit der Arbeitsökonomie der im Boden sich entwickelnden stickstoffsammelnden Organismen zu vergleichen. Wir haben schon wahrgenommen, daß in flüssigen Nährböden Azotobacter auf jede Einheit des aufgenommenen Stickstoffes ungefähr 30 Gewichtseinheiten Kohlenstoff verbrennen kann. Es ist offenbar, daß bei günstigeren Bedingungen, bei denen, wie die Versuche zeigen, bedeutende Stickstoffquantitäten aufgenommen werden, wir eine noch sparsamere Energieausgabe erwarten können. Im Boden, der ungefähr 3 Proz. Feuchtigkeit enthält, bemerken wir außerordentliche ökonomische Stickstoffaufnahme, nämlich auf jede Gewichtseinheit des aufgenommenen Stickstoffes werden nur im ganzen ungefähr 9 Kohlenstoffeinheiten verbrannt. Bei größerem Feuchtigkeitsinhalt wurden jedoch mehr als 90 Kohlenstoffeinheiten verbrannt.

Wir sehen also, daß im Boden bei gewissen günstigen Bedingungen die Stickstoffaufnahme mit geringerem Energieaufwand geschieht, als in der reinen Azotobacter-Kultur in flüssigen Nährböden. Im untersuchten Boden arbeitete also ein Organismus, der fähig ist, Stickstoff bei geringem Energieaufwand aufzunehmen. Bis jetzt erweist sich Azotobacter aktiver als alle bekannten stickstoffsammelnden Organismen, was uns auf die Vermutung bringt, daß bei den Bedingungen unserer Versuche die bedeutende Stickstoffaufnahme durch die Entwickelung dieses Organismus hervorgerufen wurde.

1) Chemie agric. et végét. T. I.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 19. März 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XX. No. 24/25.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Veränderungen in der Bakterienflora der frischen Milch während des sogenannten Inkubationsstadiums.

Von **Arthur Wolff**, Kiel.

(Schluß.)

Hashimoto (1) hat aus „mangelhaft sterilisierter Milch" zwei fakultativ anaërobische „milchsäurebildende Kokken", die Milch unter Säurebildung zum Gerinnen brachten, isoliert. Es scheint aber sein zuerst erwähnter Organismus nichts anderes als ein Bact. Güntheri zu sein, und hätte er ihn nicht mit verschiedenen typischen Streptokokken, sondern mit Bact. Güntheri verglichen, so hätte er unbedingt eine Zugehörigkeit zur Gruppe der eigentlichen Milchsäurebakterien feststellen können. Es treffen in der Beschreibung alle Merkmale für Bact. Güntheri zu; die Haufen und „Pakete", die er hin und wieder beobachtet hat, dürften Zooglöen sein, wie man sie nicht selten bei Bact. Güntheri antrifft.

Aus vorliegenden Untersuchungen resultiert, daß Bact. Güntheri, nachdem es sich in der rohen Milch so weit vermehrt hat, daß dieselbe dadurch in einen gewissen Säurezustand versetzt ist, den Morgenmilch bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° C bereits mittags erreicht hat, durch $^1/_2$-stündiges, eventuell längeres Erhitzen auf 70° C (resp. $^1/_4$-stündiges auf 80°), infolge der dabei entstehenden Klümpchenbildung, nicht vollständig abgetötet wird, sondern daß es unter Anwendung einer Anreicherungskulturmethode gelingt, Keime dieser Art und im Zusammenhang damit mitunter auch solche anderer, nicht sporenbildender Arten in solcher Milch nachzuweisen. Es muß daher, auf die Praxis bezogen, ein Pasteurisieren der Milch auch schon aus diesem Grunde möglichst bald nach ihrem Gewinnen erfolgen. Wenn pasteurisierte Milch in der Praxis im allgemeinen nicht sauer wird, so hat das seinen Grund darin, daß sie erhitzt wurde, noch bevor sie jenen Säuregrad erreicht hatte; andernfalls werden sicherlich nicht alle sporenfreien Mikroorganismen, in erster Linie Bact. Güntheri, abgetötet sein, möglicherweise aber derart geschwächt, daß sie längere Zeit hindurch (bis zum Konsum) nicht zur Entwickelung gelangen.

5. Die das Pasteurisieren regelmäßig überlebenden Kurzstäbchen.

Wie bereits zuvor erwähnt, ist in pasteurisierter Milch nicht selten eine an Bact. Güntheri erinnernde Organismenart anzutreffen, die, obgleich zur Sporenbildung nicht befähigt, dennoch einem bedeutenden Hitzegrad zu widerstehen vermag und daher vielleicht treffend mit dem Namen „resistentes Kurzstäbchen" bezeichnet werden kann.

In der Literatur ist eine Angabe über diese Organismen, abgesehen von diesbezüglichen Andeutungen in den Arbeiten von W. Rullmann (1) und N. Gerber und P. Wieske (Milchzeitg. Bd. XXXII.

1903. p. 116) nirgends zu finden, ich will daher eine eingehende Beschreibung derselben folgen lassen. Im hiesigen Laboratorium sind sie laut mündlicher Mitteilung von Herrn Prof. Burri schon seit Jahren bei der bakteriologischen Untersuchung pasteurisierter Milch aufgefallen und sie sollen für die letztere geradezu die Rolle eines „Leitorganismus" spielen.

Auf Gelatineplatten, woselbst sie in der Regel mit rasch verflüssigenden Sporenbildnern zusammen auftreten, bekommt man sie ihres langsamen Wachstums wegen vielfach überhaupt nicht zu Gesicht; auf Agarplatten wiederum gelingt es nicht immer, sie zu erhalten, weil sie durch das Austrocknen des Nährbodens im Wachstum leicht gehindert, wenn nicht vollständig unterdrückt werden. Das dürften die Gründe sein, weshalb sie bisher übersehen wurden, ganz abgesehen davon, daß sie bei lediglich mikroskopischer Beobachtung leicht mit Güntheri, sogar mit Kokken verwechselt werden können. In Milch, die aus Stall I stammte, wurden sie bis zu 500 Keimen pro Kubikcentimeter gefunden.

Gewöhnlich treten sie schon auf ein und derselben Platte in zwei verschiedenen Typen auf, die sich besonders auf Gelatineplatten einerseits durch die weiße, andererseits die gelbe Farbe ihrer Kolonieen kenntlich machen. Ein dritter Typus zeichnet sich durch deutlichere schlanke Stäbchenform der Zellen aus und steht, was die Farbe der Kolonie anbetrifft, in der Mitte zwischen den beiden erstgenannten; auch er kann mit den vorigen auf ein und derselben Platte vertreten sein. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß auch hier wie bei den Kokken die Farbe ein absolut konstantes Merkmal nicht bildet, worauf schon das Vorhandensein von Uebergangsstufen von Weiß zu Gelb hindeutet.

Bei nachstehender Beschreibung dieser Organismen handelt es sich um zwei, resp. drei Extreme, die aus der großen Zahl der die ganze Gruppe bildenden Kolonieentypen herausgegriffen wurden und die vorläufig als Rassen aufgefaßt sein mögen.

1. Rasse (gelb; relativ kurze Stäbchen):

Abgeimpft von einer 10 Tage alten Gelatineplatte, die mit pasteurisierter Milch beschickt war.

A. Mikroskopisches Bild: Unbewegliche Kurzstäbchen von unregelmäßiger Gestalt; sehr oft Kokken- und Güntheri-ähnlich, so daß es den Anschein erweckt, als hätte man genannte Bakterien in involtiertem Zustande vor Augen, zuweilen auch birnförmig oder flaschenförmig. In der Größe von 1—2 × 0,5—1 μ schwankend; einzeln, zu zweien, auch zu mehreren aneinander gereiht, mitunter in Haufen. In Oberflächen- und Tiefenkolonieen gleich.

B. Kulturelles Verhalten: Molkengelatineplatten: Erst am 5. Tage treten Kolonieen als winzig kleine Pünktchen auf, die anfänglich weißlich erscheinen, später aber gelb werden. Am 10. Tage ca. 1 mm groß und in der Regel später dies Maß nicht überschreitend; kreisrunde, flache, glänzende Tröpfchen, die etwas vertieft in der Gelatine gelagert sind. Gegen das Licht undurchsichtig. Oberflächen- und Tiefenkolonieen gleich, letztere nur sehr wenig kleiner. Nach 14 Tagen erst deutlich ausgebildet. Bei 100-facher Vergrößerung homogene, kreisrunde Scheibchen mit scharfem, glattem Rand, an der Oberfläche wie in der Tiefe.

Agarplatten bei 30° C: Gewöhnlich am 3. Tage Wachstum, am 5. im Maximum 1 mm große, hellgelbe, mattglänzende Kolonieen, rundlich

und flach. Auch am 10. Tage nur 1 mm groß, gegen das Licht oft gelb durchscheinend. Tiefliegende meist wetzsteinförmig oder annähernd dreieckig. Bei 100-facher Vergrößerung gekörnt, auch am Rande; Tiefenkolonieen desgleichen, zuweilen nach der Oberfläche durchgewachsen.

Molkengelatinestich: Aeußerlich von Bact. Günth. nicht zu unterscheiden, erst im Alter durch die gelbe Farbe.

Agarstrich: Bei 30° nach 36 Stunden kräftiger, saftig gelber, zuweilen, besonders im Alter, sogar grünlich erscheinender Belag; bei 37° schwächer. Am 5. Tage Falten, die von einer Mittelrippe nach dem gelappten Rande gehen. Am 10. Tage ist die Auflagerung in der Mitte merklich stärker, während sie nach dem Rande zu an Dicke abnimmt; bei 37° bleibt der Belag etwas schwächer.

Milchzuckeragarstich: Nach 48 Stunden freudiges Wachstum bis in die Tiefe, Stichkanal knötchentragend; ganz kleine Auflagerung, die an Größe kaum zunimmt.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Auf der Oberfläche am 2. Tage grauer Belag von vielen punktförmigen Kolonieen, aber auch in der Tiefe Wachstum, das später deutlicher hervortritt.

Bouillon: Erst am 6. Tage tritt ein ganz leichter Bodenbesatz auf, zuweilen überhaupt nicht.

Traubenzucker-Bouillon: Am 2. Tage schon ziemlich starke Bakterienansammlungen an der Glaswandung und kräftiger Bodensatz, der beim Schütteln grobe Flocken gibt.

Kartoffel: Gewöhnlich kein Wachstum, oder nur äußerst schwach.

2. Rasse (weiß; relativ kurze Stäbchen):

Mikroskopisches Bild: Genau so wie bei den eben beschriebenen.

Molkengelatineplatten: Die Kolonieen erscheinen etwas größer als die gelben, indem zuweilen solche von 1,5 mm Durchmesser zu finden sind. Auch können sie mitunter von der kreisrunden Form etwas abweichen, sonst aber sind sie von den erstbeschriebenen nur durch ihre weiße Farbe verschieden.

Agarplatten: Auch hier oft über 1 mm, im Maximum sogar 3 mm große, nicht selten von der runden bis zur viereckig-gelappteu Gestalt abweichende Kolonieen. Nach langem Aufbewahren nehmen auch sie eine schwach gelbliche Farbe an.

Agarstrich: Ausgesprochen weißer Belag, bei 37° nicht schwächeres Wachstum, im übrigen genau wie Rasse 1.

Auf allen anderen Nährböden ist, abgesehen von der Farbe, kein Unterschied der gelben Rasse gegenüber zu verzeichnen.

3. Rasse (gelblichweiß; relativ lange Stäbchen):

Mikroskopisches Bild: Bei dieser Rasse ist der Stäbchencharakter deutlich ausgeprägt; besonders in jungen Kulturen und auf Agarplatten findet man vorherrschend regelmäßige Stäbchen, die etwas kleiner als die Formen der gelben und weißen Rasse sind, $1\frac{1}{2}$—$2 \times \frac{1}{2}$ μ. Auf Molkengelatine ist der Stäbchencharakter nicht mehr so deutlich, sondern es treten schon viele Formen auf, die an Bact. Güntheri erinnern, jedoch kleiner sind; Doppelstäbchen 2 μ groß und scheinbar niemals zu Kettchen vereinigt; dazwischen reguläre, einzelne Stäbchen, die nur sehr selten länger als 2 μ sind: auf Agarstrich und in Milchzuckeragarstich ebenso. Die Stäbchen erscheinen

nach einiger Zeit gekrümmt, auf Agar sind nicht selten aufgeblasene Formen, selbst kreisrunde Gebilde von einem Durchmesser bis zu 1,3 μ, die seitlich einen Stiel von der Dicke der Stäbchen tragen, zu beobachten, auf Kartoffel meist Kugel- oder Flaschenformen. Alle bisher beschriebenen Formenarten waren, wie Färbepräparate zeigten, in älteren Milchkulturen, und zwar bei jeder der 3 Rassen zu finden.

Molkengelatineplatten: Das gleiche Kolonieenbild wie bei den beiden zuvor beschriebenen Rassen in gelblicher Farbe.

Agarplatten bei 30° C: In der Farbe sowohl wie auch dadurch, daß ihre Kolonieen wie die der weißen oft durchsichtig, wie die der gelben Rasse in rundlicher bis kreisrunder Gestalt wuchsen, zwischen den erstgenannten die Mitte haltend.

Molkengelatinestich: Bei ganz kleiner gelblicher Auflagerung, die sich aber erst nach 3 Tagen zeigt, ein etwas schwächeres Wachstum in der Spitze des Stichkanals.

Milchzuckeragarstich: Das eben beschriebene Bild etwas markanter, Ausbreitung etwas größer.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Nur in dem oberen Drittel der Schicht Wachstum, an der Oberfläche am stärsten.

Agarstrich: Nach 48 Stunden weißgelber, später hellgelber, glänzender Belag, vollständig gleichmäßig, am Rande gelappt; bei 37° etwas schwächeres Wachstum.

Kartoffel: Einmal nur wurde ein ganz feiner gelber Belag gesehen, gewöhnlich aber trat wie bei den anderen Rassen kein Wachstum auf.

Auf den übrigen Nährböden konnte keine Differenz gegenüber Rasse 1 und 2 konstatiert werden.

Milch: Wurde durch keine der 3 Rassen weder bei 30 noch bei 37° sichtbar verändert. Selbst nach 2 Monate langem Aufbewahren, wobei natürlich die Milch ranzig geworden war, und ihr Volumen sich bedeutend verringert hatte, war von einer wahrnehmbaren Tätigkeit der Organismen nichts zu merken; diese selbst fanden sich noch in stark lichtbrechenden Formen vor. Nur ein einziges Mal unter vielen Proben trat am 12. Tage brockige Gerinnung ein, doch kam es nicht zur Bildung eines festen Koagulums. (Vor einigen Jahren durch Prof. Burri vorgenommene Untersuchungen derselben Organismen hatten bei einzelnen Stämmen bei 30° C in ca. 12 Tagen eine deutliche Gerinnung der Milch ergeben.)

Nach 10 Tagen betrug der Säuregrad:

	Rasse I.	Rasse II.	Rasse III.
bei 30°	1,5	3,8	0,4
bei 37°	1,0	3,3	0,1

Diese Bestimmungen wurden gleichzeitig ausgeführt, andere verschiedentlich ausgeführte Einzelbestimmungen ließen als Säuremaximum 4,5° konstatieren.

Alle 3 Rassen wurden des weiteren bezüglich ihres Wachstums in Hoher-Schicht-Kultur bei Anwendung von Agar, Traubenzucker- und Milchzuckeragar geprüft. Es zeigte sich am 3., deutlicher noch am 5. Tage, in stark besetzten Kulturen nach der Oberfläche hin und in der Nähe des Kautschukstopfens, dort also, wo der Sauerstoff freieren Zutritt hatte, freudigeres Wachstum, in Traubenzucker- und Milchzuckeragar fehlte es in der Mitte zuweilen sogar gänzlich; in mäßig besetzten

Kulturen war die Vegetation gleichmäßig verteilt durch die ganze Schicht, wohl aus dem Grunde, weil hier bei der relativ geringen Zahl der Kolonieen keine geschlossene sauerstoffabsorbierende Massen entstanden und damit im Zusammenhang die tiefe Schicht des Nährbodens von oben her genügend mit Sauerstoff versorgt wurde.

Die Kolonieen wurden im Maximum 1 mm groß. In gewöhnlichem Agar wuchsen die Organismen am schlechtesten, in Milchzuckeragar merklich besser, in Traubenzuckeragar reichlich ebensogut.

In den bei 30 ° aufbewahrten Hohen-Schichten zeigte sich im allgemeinen ein freudigeres Wachstum als bei 37 °, die Wachstumsweise war jedoch die gleiche. Auch hier trat bei Anwendung von gewöhnlichem Agar als Nährboden geringeres Wachstum ein, was sich bei 30 ° C, der Optimaltemperatur der Organismen, noch deutlicher markierte. Rasse 3 zeigte wiederholt nur kümmerliches Wachstum; schließlich wurden nochmals, und zwar von einer Kolonie, die in der Mitte der Schicht gewachsen war, Schüttelkulturen angelegt; diese zeigten dann in der ersten Verdünnung an der Oberfläche, ca. 1 cm tief, zahlreiche helle Pünktchen, während in der Tiefe kein Wachstum zu bemerken war. Nach 6 Tagen traten auch in der Hohen-Schicht (Verdünnung a) viele punktförmige Kolonieen, in der Oberflächengegend zahlreicher, auf. Die 3. Rasse neigte also, wie schon die Schüttelkultur gezeigt hatte, mehr aërober Lebensweise zu.

Bei einem kulturellen Vergleich mit Bact. Güntheri stellten sich auf einzelnen Nährböden ganz auffallende Aehnlichkeiten, besonders mit der 1. und 2. Rasse, heraus. Ein durchgreifender Unterschied aber besteht darin, daß, abgesehen von der Pigmentbildung, die in jungen Kulturen jedoch nur schwach ist, auf Agarstrich bei 30 und 37 ° das Wachstum bei den Resistenten merklich kräftiger ist als bei Güntheri, wobei jedoch beide Organismen wieder darin verwandt erscheinen, daß der Belag hier wie dort bei 37 ° schwächer ist als bei 30 °; ferner zeigen auf Strichkulturen am 10. Tage die Resistenten auch bei 37 ° starke Auflagerung, Güntheri dagegen nur schwaches Wachstum.

Im Milchzuckeragarstich zeigen Rasse 1 und 2 ein gleiches Wachstum wie Bact. Güntheri, die kleine Auflagerung ist vielleicht etwas üppiger; zum Unterschied tritt aber bei den Resistenten niemals vor dem 6. Tage, vielmehr erst später und stets in geringerem Maße, oft auch überhaupt nicht, Trübung des Nährbodens ein.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Bei den Resistenten tritt frühestens nach 48 Stunden Trübung auf, die zwar am 3. Tage stärker wird, niemals aber den Grad wie bei Bact. Güntheri erreicht.

In Bouillon kommt dies Verhalten, bei Bildung bedeutend stärkeren Bodensatzes, noch deutlicher zum Ausdruck.

Die Ansprüche an Sauerstoffzutritt gehen aus den Beschreibungen der Schüttelkulturen und der hohen Schichten deutlich hervor, auch die Resistenten und zwar alle 3 Rassen sind fakultativ anaërobe (oder fakultativ aërobe) Organismen, im Verhältnis zu Güntheri aber neigen sie entschieden mehr aërober Lebensweise zu, besonders Rasse III.

Abgesehen von dem kulturellen Verhalten, spricht der Umstand, daß sie in ein und demselben Medium, in Milch, gefunden wurden und durch Pasteurisieren nicht abgetötet werden, durchaus dafür, daß die 3 eben beschriebenen Organismen zu ein und derselben Species gehören und als „Rassen“ derselben zu betrachten sind. Es ist übrigens nicht schwierig, auf ein und derselben Platte neben diesen Typen verbindende Uebergangsformen nachzuweisen.

Resistenzversuch:

Um vorliegende Bakterienart auf Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen zu prüfen, wurden je 20 ccm steriler Milch in 3 Gläschen von genau gleicher Beschaffenheit, je mit einem der 3 verschiedenen Kulturstämme geimpft, bei 30° 48 Stunden lang anwachsen gelassen und alsdann in einem großen (offenen) Gefäß in siedendem Wasser $^1/_4$ Stunde lang gehalten. Das Wasserniveau war hierbei etwa 3mal so hoch als das der Milch in den Gläschen. Von Zeit zu Zeit wurden die Proben, ohne sie aus dem Gefäße zu heben, mit Vorsicht, auf daß nicht etwa Milchteilchen an die obere Glaswandung geschleudert wurden, gut durchgeschüttelt; ohnehin aber wurden die Gläschen, da sie den Boden des Gefäßes nicht berührten, durch das Wallen des siedenden Wassers in dauernder Bewegung gehalten.

Ein Vergleich zwischen den vor und nach dem Erhitzen angelegten Kulturen (Agar- und Gelatineplatten) ergab, daß ca. $^1/_{10}$ der Gesamtzahl der Keime das Kochen überdauert hatte. Dabei wurde die interessante Beobachtung gemacht, daß die gelbe Rasse ihr Pigmentbildungsvermögen verloren hatte, die Kolonieen erschienen auf den Platten nach dem Erhitzen deutlich weißlich. Ferner war bei allen 3 Rassen, besonders bei der ersten, eine Art Verschleimung zu konstatieren, denn beim Abimpfen blieb stets die ganze Kolonie an dem Platinhäkchen haften; das Material klebte am Deckgläschen an und ließ sich im Wassertröpfchen schlecht verteilen, zudem erschienen die Organismen zuweilen stärker lichtbrechend und nahmen beim Färben mit Methylviolett den Farbstoff schwerer auf. Während sie eine 15 Minuten dauernde Hitzeeinwirkung von 80° C, wie ein Vorversuch ergab, noch unbeschadet ertragen konnten, sehen wir hier, also bei Einwirkung von Siedetemperatur, bereits eine Degeneration eintreten und zwar schien die 3. Rasse von der Hitze am meisten mitgenommen zu sein.

Ein daran anknüpfender Versuch lehrte, daß keine der Rassen die Siedehitze $^1/_2$ Stunde lang ertrug.

Der Vollständigkeit halber wurde alsdann noch ein Resistenzversuch bei gleicher Temperatur in Bouillon und in sterilem Leitungswasser (je 10 ccm Flüssigkeit in Reagenzgläschen) ausgeführt. Das Impfmaterial wurde von einer Agarstichkultur entnommen, mit der Nadel in dem etwas schräg gehaltenen Gläschen an der Berührungsstelle der Flüssigkeit mit der Glaswandung möglichst fein verrieben und gründlich durchgeschüttelt.

Nach 2 Stunden wurden dann die Proben in bereits beschriebener Weise erhitzt. Vor und nach dem Pasteurisieren angelegte Plattenkulturen zeigten, daß in Bouillon fast 10 Proz. aller Organismen der Siedehitze $^1/_4$ Stunde lang Widerstand geleistet hatten. In Wasser waren bei Rasse I, die auch diesmal wieder ihr Pigment verlor, von 250 Kolonieen nur eine, bei der zweiten von 290 nur 2 geblieben, während von der dritten Rasse nur vor dem Erhitzen 3 Kolonieen gewachsen waren.

Es wäre demnach konstatiert, daß auch nichtsporenbildende Bakterien Temperaturen, wie sie beim Pasteurisieren angewendet werden, zum Teil sogar Siedetemperatur, zu ertragen vermögen, wobei je nach der Beschaffenheit des Mediums, in dem die Keime suspendiert sind, ihre Resistenz Schwankungen unterliegen kann.

Nach diesen Betrachtungen wollen wir uns wieder unserer Haupt-

aufgabe zuwenden und das Verhalten der einzelnen Bakteriengruppen in der Milch bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen weiter verfolgen, wobei wir zunächst die besonders wichtige Gruppe der Sporenbildner ins Auge fassen.

6. Aërobe und fakultativ anaërobe Sporenbildner.

Um sporenbildende Bakterienarten zunächst nur insoweit, als sie im Sporenstadium in der Milch vorhanden waren, nachzuweisen, wurde in den ersten 5 Versuchen, wie schon im Kapitel über die Pasteurisierversuche erwähnt, neben der Verarbeitung der rohen Milch in bekannten Zeitintervallen gleichzeitig auch ein Quantum dieser bei 30° C aufbewahrten Probe bei 70 oder 75° C während 30 Minuten pasteurisiert, um davon (1 und 1:10 ccm) Molkengelatine- und Agarplatten, ferner Milchzuckeragar-Hohe-Schichten anzulegen. Die Ergebnisse, d. h. die Zahlen der auf diese Weise gefundenen, aus Sporen entstandenen Kolonieen (mit Ausschluß sonst noch konstatierter, nichtsporenbildender resistenter Arten) sind in folgender Tabelle niedergelegt. In Versuch III wurde das Zahlenbild infolge Auftretens von Güntheri- und anderen Keimen (die Milch war, wie wir bereits wissen, stark Güntheri-haltig) gestört und ist daher fortgelassen.

Versuch	Kultur	8 Uhr		11 Uhr		2 Uhr		5 Uhr	
		1 ccm	1:10 ccm	1 ccm	1:10 ccm	1 ccm	1:10 ccm	1 ccm	1:10 ccm
I.	Gelatine	43	3	40	6	30	3	verfl.	10
	Agar	62	7	150	17	100	17	130	15
II.	Gelatine	30	9	—	12	—	7	—	12
	Agar	170	17	—	20	—	14	—	9
IV.	Gelatine	20	4	15	4	—	7	—	4
	Agar	50	7	60	6	70	10	50	9
V.	Gelatine	30	4	22	2	20	2	16	2
	Agar	50	5	40	4	60	6	60	6

In den Hohen-Schicht-Kulturen waren keine oder nur vereinzelte Sporenbildner zu finden, jedenfalls infolge des ausgesprochen aëroben Charakters der beobachteten Flora stets auffallend weniger als auf den entsprechenden Plattenkulturen, weshalb der Befund der Hohe-Schicht-Kulturen nicht in die Tabelle aufgenommen wurde. Weitaus die Mehrzahl der gefundenen Sporenbildner, die nicht selten eine starke Bakteriendecke auf der Oberfläche des Nährbodencylinders gebildet hatten, entfiel auf Vertreter aus der Heu- und Kartoffelbacillengruppe, Bact. megatherium trat nur in geringer Zahl auf, so daß auf 1:10 ccm-Platten nur ganz vereinzelte, oft überhaupt keine Kolonieen dieser Art zu beobachten waren, desgleichen Bac. mycoides. Ihre Zahl ist der Tabelle zufolge gering und schwankt zwischen 20—170 Kolonieen pro Kubikcentimeter. Des weiteren ist während der ganzen Untersuchungsdauer, abgesehen von Schwankungen, wie sie bei so geringer Zahl der Keime stets eintreten werden, weder eine Zu-, noch eine Abnahme der Keimzahl zu beobachten.

Beim Pasteurisieren wurden natürlich die vegetativen Formen der sporenbildenden Bakterien abgetötet, doch sollte auch über ihr Verhalten Aufschluß gegeben werden, was allerdings mit gewissen Schwierigkeiten verbunden war.

Beim Verfolgen der Gesamtbakterienflora traten in den gebräuchlichen Kulturen infolge der notwendigerweise hoch gegriffenen Verdünnungen weder Sporen noch die zugehörigen vegetativen Keime auf, es war daher für den Nachweis speziell der letzteren ein besonderes Verfahren notwendig.

Der Beobachtung zufolge, daß sich die Sporenbildner in der Menge der anderen Bakterienarten noch verhältnismäßig am besten auf Agarplattenkulturen kennzeichnen, wurden probeweise in dem einleitenden Versuche (VI) solche mit 1 : 10 ccm der rohen Milch beschickt; eine weitergehende Verdünnung des Aussaatmaterials durfte, obgleich sehr stark besetzte Platten, zumal um 2 und 5 Uhr, zu erwarten waren, der geringen Zahl der gesuchten Keime wegen nicht statthaben.

Auf Plattenkulturen zeichnen sich die Sporenbildnerkolonieen vor den anderen durch eine Faser- und Schollenstruktur aus, die sich besonders bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop, bei Ausschaltung des Spiegels, oft aber auch schon mit der Lupe, seltener mit bloßem Auge, beobachten läßt. Zwar ist diese Struktur der Kolonieen auf den Gelatineplatten bei einzelnen nicht verflüssigenden Species deutlicher, jedoch ist dieser Typus selten, die meisten verflüssigen den Nährboden und einzelne Kolonieen, die sich besonders stark ausbreiten, machen alsdann eine Beurteilung der Flora auf der Platte unmöglich; ferner entwickeln sich die aus Sporen hervorgehenden Kolonieen der niedrigen Aufbewahrungstemperatur dieser Kulturen wegen nur langsam, zuweilen überhaupt nicht; aus diesem Grunde wurden Gelatineplatten bei Untersuchung pasteurisierter Milch nur anfangs, späterhin aber nicht mehr verwendet; für Kulturen von roher Milch fielen sie ohnehin schon der verflüssigenden Kokken und Kurzstäbchen wegen außer Betracht.

Für den Nachweis der vegetativen Sporenbildner wurden also (im VI. Versuche) einmal in gewöhnlicher Weise Agarplatten und außerdem gleich näher zu beschreibende Agarstrichkulturen von der rohen Milch angelegt, anderseits die Zahl der Sporen als solche nach dem Pasteurisieren in üblicher Weise bestimmt. Die Differenz in der Zahl der aus roher Milch gewachsenen Sporenbildnerkolonieen und der auf den mit pasteurisierter Milch beschickten Kulturen gefundenen, sollte die vegetativen Formen ergeben. Die Milch in Versuch VI, VII und VIII wurde bei 30° C gehalten.

Versuch VI (Aufbewahrungstemperatur 30° C).

I. Ergebnis der mit roher Milch für den Nachweis speziell vegetativer Keime ausgeführten Kulturen.

1. Die Agarstrichkulturen:

In schräg gelegten Gläschen erstarrtes Agar wurde in einem Streifen auf der Strichfläche mittels einer abgeglühten Platinöse, die genau 1 mg Milch faßte, beimpft, indem als erste Verdünnung Material direkt aus der Milchprobe entnommen wurde, als zweite und dritte je eine solche aus 1 : 100 und 1 : 1000 Verdünnung, so zu allen 4 Zeitpunkten. Dabei wurde von der Beobachtung ausgegangen, daß sich alle langstäbchenförmigen sporenbildenden Bakterien dadurch kenntlich machen, daß sie im Wachstum sozusagen aus der Reihe drängen, da sie bei ihrer Vermehrung durch Teilung infolge ihrer Länge gewissermaßen im Vorteil sind. Es wurde z. B. bei allen Kokkenstämmen auf Agarstrich-

kulturen niemals eine Ausbreitung bis zur Glaswandung beobachtet, während bei Bac. mesentericus z. B. bekanntermaßen oft schon nach 24 Stunden die ganze Oberfläche überwachsen ist. Es demonstrierte diese Agarstrichkultur recht schön Zahl, Art und Vermehrung aller Milchbakterien, doch muß man bei der Impfung vermeiden, mit der Oese das Kondenswasser des Nährbodens zu berühren, weil alsdann mehr oder weniger Impfmaterial bereits dort abgesetzt, und je nach dem Maß, in dem dies der Fall ist, eine größere oder geringere Zahl der Kolonieen auf der Impffläche auftreten wird; auch kann auf diese Weise eine Bakterienart ganz übersehen werden. Weil aber die Kolonieen bei Anwendung dieser Methode für eine Untersuchung sehr schwer zugänglich sind, so wurde von ihr fernerhin Abstand genommen.

2. Die Agarplatten:

Auf einer der um 8 Uhr in Doppelproben mit 1 : 10 ccm beschickten Kulturen gelang es, 4 Sporenbildnerkolonieen herauszufinden, die besonders deutlich eine Schollenstruktur aufwiesen und nicht zur Gruppe der Heu- und Kartoffelbacillen gehörten. Um 11 Uhr wurden 5 Kolonieen, darunter der genannte Typus, um 2 und 5 Uhr auf der nächst höheren Verdünnung kein Sporenbildner gefunden.

II. Befund auf den von pasteurisiertem Material gegossenen Molkengelatine- und Agarplatten:

8 Uhr: Gel. 1:10 ccm: durch 4 Mesentericus-Kolonieen verflüssigt. 1 ccm Gesamtzahl 33 Kolonieen, 2 jener Schollenkolonieen, 2 Bac. mycoides, 5 Mes. ruber, im übrigen nur Vertreter der Mes.-Gruppe. Ag.: 1:10 ccm: 5 Sporenbildner und zwar eine Schollenkolonie und 4 Mes. 1 ccm: abgesehen von einigen der erstgenannten, nur Mes. gefunden.

11 Uhr: Gel. 1:10 ccm: 2 Schollenkolonieen und 2 Mes. — 1 ccm: 35 Kolonieen und zwar 1 Bac. meg., einige der Schollenbildner und verschiedene Mes.-Rassen. Ag. 1:10 ccm: 7 Sporenbildner. — 1 ccm: ca. 50 derselben.

2 Uhr: Gel. 1:10 ccm: 3 Mes. — 1 ccm: 1 Bac. meg. und ca. 20 aus der Kartoffelbacillengruppe. Ag. 1:10 ccm: 1 Bac. mycoides, 1 Schollenbildner, 2 Mes. — 1 ccm: ca. 45 Sporenbildner.

5 Uhr: Gel. 1:10 ccm: 1 Mes. (1 Coccus und eine Sarcine). — 1 ccm: ca. 20 Sporenbildner. Ag. 1:10 ccm: 3 Mes. — 1 ccm: ca. 40 Sporenbildner.

Wie wir sehen, stimmt die um 8 und 11 Uhr auf den 1:10 ccm-Kulturen konstatierte Zahl der in der rohen Milch gefundenen Sporenbildner (4—5 Kolonieen) mit der in pasteurisiertem Material beobachteten (4 resp. 5 und 4 resp. 7 Kolonieen) überein und deutet darauf hin, daß zu Anfang keine vegetativen Sporenbildnerkeime vorhanden sind. Andererseits spricht das Gleichbleiben der Kolonieenzahl bis um 5 Uhr abends in der pasteurisierten, ferner das Nichtauftreten in 1:100 ccm der um 2 und 5 Uhr verarbeiteten rohen Milch dafür, daß ein Vermehren der Sporenbildner nicht stattgefunden hat. Es erschien aber die gewöhnliche Plattenkulturmethode für einen Nachweis der vegetativen Keime als unzureichend und schon der auftretenden Tiefenkolonieen wegen, die leicht zu übersehen sind, als nicht sicher genug.

Versuch VII (Aufbewahrungstemperatur 30° C).

In diesem Versuche wurde für den Nachweis der in der rohen Milch vorhandenen Sporenbildner, speziell der Vegetationsformen, eine Methode angewendet, die den zuvor erwähnten Vorteil der Strichkultur und den einer Plattenkultur verband, bei der außerdem auch das Auftreten von Tiefenkolonieen ausgeschlossen wurde. $^1/_{10}$ ccm

Milch wurde in 3 Tropfen, von denen einer in der Mitte, die beiden anderen in gleichem Abstand rechts und links davon zu fallen kamen, auf eine erstarrte Agarplatte gebracht und mit einem eigens dazu geformten (zweimal im rechten Winkel, einmal seitwärts, das andere Mal nach oben gebogenen) Platinhaken in parallelen breiten Streifen ausgestrichen. Daß auf diese Weise tatsächlich die vegetativen Keime, falls solche vorhanden waren, dazu demonstrativer noch als bei Anwendung des gewöhnlichen Plattenkulturverfahrens, nachgewiesen werden konnten, wurde experimentell festgestellt, indem 100 ccm der in bekannter Weise aus Stall I entnommenen Milch morgens und nach Aufbewahren bei Zimmertemperatur auch abends mit 1 ccm einer jungen Bouillonkultur von B. mesentericus, die untersuchungsgemäß noch keine Sporenformen aufwies, versetzt und in geeigneten Verdünnungen (bis zu 1:1000000) verarbeitet wurde.

Da die Gefahr, infolge ihres spärlichen Auftretens keine Sporenbildner zu fassen, beim Pasteurisieren von 1 und $^1/_{10}$ ccm der rohen Milch direkt in dem verflüssigten Nährboden größer schien, als wenn ein Quantum Milch zunächst pasteurisiert und dann aus diesem Material, in dem die Sporen besser verteilt sein dürften, entnommen wurde, zumeist aber wegen der Gefahr des Amlebenbleibens vegetativer Formen bei erstgenannter Pasteurisiermethode, wurde bei diesem und allen folgenden Versuchen ein Quantum von ca. 20 ccm Milch in sterilen Reagenzgläschen pasteurisiert und daraus das Material für die Untersuchung entnommen.

I. Ergebnis der von pasteurisiertem Material angelegten Kulturen.

1. Gelatineplatten.

8 Uhr 1 ccm: 8 verflüssigende, einige nicht verflüssigende Sporenbildner. Der rasch vor sich gehenden Auflösung des Nährbodens wegen nicht bis zum Schluß zu verfolgen.

1:10 ccm: 3 Kolonieen, und zwar 2 zur Mes.-Gruppe gehörig und 1 „Schollenkolonie"; am 3. Tage bereits verflüssigt.

11 Uhr 1 ccm: in kurzer Zeit verflüssigt, desgleichen die entsprechenden Platten von 2 und 5 Uhr. — 1:10 ccm: 1 große Mesentericus-Kolonie und 1 punktförmige, nicht verflüssigende.

2 Uhr 1:10 ccm: erst am 3. Tage trat eine Mes.-Kolonie auf, die sich außerordentlich ausbreitete, am 5. Tage auf dem noch nicht verflüssigenden Nährboden kein Keim zu finden.

5 Uhr 1:10 ccm: am 3. Tage morgens erst 1 Mes.-Kolonie und 3 punktförmige, am 5. Tage eine 4. nicht verflüssigende.

2. Agarplatten.

Die 1 ccm-Platten waren zu dicht besitzt.

8 Uhr 1:10 ccm: 39 Sporenbildner, und zwar 17 Mes., 12 desgl. von anderem Typus, 9 der Schollenbildner, eine Kolonie barg ungleichmäßig (ca. 1 μ) breite Langstäbchenformen, die sehr oft und in kurzen Abständen gegabelt waren und wahrscheinlich der später noch zu erwähnenden Klasse der Aktinomyceten einzureihen sind.

11 Uhr 1:10 ccm: 37 Kolonieen in sehr ähnlicher Verteilung.

2 Uhr 1:10 ccm: 51, meistens der Mes.-Gruppe angehörig, 5 Schollenkolonieen.

5 Uhr 1:10 ccm: 40 Sporenbildner, darunter 3 der letztgenannten.

Der auffallend große Unterschied in der Zahl der Kolonieen auf Gelatine- gegenüber Agarplatten ist wohl daraus zu erklären, daß intensiv verflüssigende Kolonieen, die langsamer wachsenden Typen, welche der niedrigen Temperatur wegen zuweilen überhaupt nicht zur Entwickelung gelangt sein dürften, in sich aufnahmen. Wie gesagt, wurden Gelatineplatten weiterhin nicht mehr verwendet.

II. Ergebnis der 1:10 ccm-Ausstrichkulturen.

8 Uhr: ca. 20 Sporenbildner. 11 Uhr: 25, unter denen wieder jene Schollenkolonieen zu finden waren. Auf ein Heraussuchen der Sporenbildner auf den von anderen Bakterienarten stark besetzten 2 und 5 Uhr-Platten mußte einstweilen verzichtet werden; in Zukunft wurde für diese Zeitpunkte nur 1 : 100 ccm Milch zum Impfen verwendet, denn eine Vermehrung der uns interessierenden Keime mußte eingetretenen Falls auch alsdann zum Ausdruck kommen, zumal in 1 : 10 ccm oft schon mehr als 10 Keime gefunden wurden.

Ein Vergleich der unter I2 einerseits und II andererseits beschriebenen Kulturen ergibt, wenigstens was die beiden ersten Untersuchungszeitpunkte (8 und 11 Uhr) anbetrifft, sogar eine geringere Zahl der Sporenbildner auf den Ausstrichplatten; vegetative Keime dürften daher nicht vorhanden gewesen sein; die geringere Zahl erklärt sich wohl daraus, daß den Sporen in der Menge der anderen Bakterienarten, nicht in letzter Linie der säurebildenden, zu ungünstige Bedingungen zum Auskeimen gegeben waren.

Versuch VIII (Aufbewahrungstemperatur 30° C).

Ag. past. 1:10 ccm.		Ausstrichkulturen.	
8 Uhr:	a = 4	1:10 ccm	a = 0
	b = 6		b = 2
11 Uhr:	desgl.		a = 1
			b = 0
2 Uhr:	a = 5	1:100 ccm	0
	b = 6		
5 Uhr:	a = 4		desgl.
	b = 7		

Alle gehörten zur Gruppe der Kartoffelbacillen.

Auch hier zählen wir wieder auf den von roher Milch angelegten Kulturen weniger Sporenbildnerkolonieen. Man wird hieraus wohl auf das Fehlen von vegetativen Formen schließen dürfen, wobei aber immerhin die Möglichkeit eingeräumt werden muß, daß antagonistische Wirkungen nicht nur auf Sporen, sondern ebenso gut auf vegetative Stadien ihren Einfluß ausüben könnten.

Die Zahl der Sporenbildner läßt die ganze Aufbewahrungszeit hindurch keine Vermehrung auf Platten des pasteurisierten Materials, aber auch keine Abnahme, die auf ein Auskeimen und Bildung vegetativer Keime schließen lassen würde, erkennen; als Sporen, so wie sie in die Milch gelangt sind, bleiben die Keime liegen, während die anderen Bakterienarten sich stark vermehren.

Versuch IX (Aufbewahrungstemperatur 37°).

Außer der Wahl einer für das Wachstum der Sporenbildner günstigeren Aufbewahrungstemperatur wurde in vorliegendem Versuch, der besseren Beobachtung der zu untersuchenden Verhältnisse wegen, die Hälfte der Milchprobe künstlich mit Sporenmaterial angereichert.

Sogenannte „Heublumen", direkt dem Boden des Futterraumes entnommen, wurden in ein Leinwandtuch eingeschlagen und durch Aufklopfen auf einen Bogen weißen Papieres wurde ein feiner Staub abgesiebt, der dann in geeigneter Menge einem der beiden Aufbewahrungskolben zugesetzt wurde; wir wollen diese infizierte Milch, im Gegensatz zu der gleichzeitig zur Untersuchung gelangten normalen Milchprobe A, mit B bezeichnen.

Von beiden Proben der rohen Milch wurden wieder Ausstrich-

kulturen in bereits beschriebener Weise angelegt und zu gleicher Zeit von der entsprechenden pasteurisierten Milch in Doppelproben Agarplatten gegossen. Die Zahlen der in diesen Kulturen gefundenen Kolonieen sind im folgenden in der üblichen Weise nebeneinander gestellt.

Ag. past. 1:10 ccm. Probe A.		Ausstrichkulturen. Probe A.	
8 Uhr: Platte a	= 2	1:10 ccm a	= 9
„ b	= 1	b	= 11
11 Uhr: Platte a	= 2	a	= 10
„ b	= 2	b	= 12
2 Uhr: Platte a	= 0	1:100 ccm a	= 0
„ b	= 1	b	= 2
5 Uhr: Platte a	= 1	a	= 0
„ b	= 2	b	= 1

Probe B.			Probe B.	
8 Uhr:	1:10 ccm	= ca. 100	1:100 ccm = 22	
	1:100 „	= 14		
11 Uhr:	1:10 „	= viele	do. = 21	
	1:100 „	= 9		
2 Uhr:	1:10 „	= —	do. = 19	1:1000 ccm = 2
	1:100 „	= 12		
5 Uhr:	1:10 „	= —	do. = 22	do. = 1
	1:100 „	= 2?		

Der Grund, weshalb um 5 Uhr (Ag. past. Probe B 1:100 ccm) nur 2 Kolonieen auftraten, dürfte in der beim Pasteurisieren eintretenden Klümpchenbildung liegen, welche einer feinen Zerteilung der Milch im Nährboden hinderlich ist. Beim weiteren Aufbewahren der Milchkolben zeigte Probe B reichlichere Serumausscheidung und stärkere Gasbildung als Probe A und nahm einen käsigen Geruch an.

Durchgehend sind in diesem Versuche in beiden Proben die Kulturen der rohen Milch stärker besetzt als die der pasteurisierten; es dürften daher diesmal, sei es infolge Kontaktinfektion, sei es durch Kot- oder Erdpartikelchen, tatsächlich auch vegetative Formen in die Milch gelangt sein; wenn sich dabei das Verhältnis der Keimzahlen in Probe A zu dem in Probe B verschoben hat, derart, daß auf den Ausstrichkulturen der Probe B gegenüber dem Befund in pasteurisierter Milch nicht in demselben Maße eine größere Anzahl Kolonieen zu finden ist als in Probe A, so ist das vielleicht daraus erklärlich, daß in Probe B infolge des direkten Sporenzusatzes weniger vegetative Keime zugegen waren; jedenfalls aber haben auch diese Keime, wie die Ausstrichkulturen zeigen, mit fortschreitender Zeit keine Zunahme erfahren.

Versuch X (Aufbewahrungstemperatur 20—22 ° C).

Es war dieser Versuch eine Wiederholung des vorausgegangenen bei geänderter Aufbewahrungstemperatur. Doch wurde in Anbetracht der niedrigeren Temperatur die Aufbewahrungsdauer auf 16 Stunden verlängert und in Zeitintervallen von 5 Stunden, demnach um 7, 12, 5 und 10 Uhr, die Anlage der Kulturen vorgenommen.

Ag. past. Probe A. 1:10 ccm		Ausstrichpatten. Probe A. 1:10 u. 1:100 ccm
7 Uhr morgens:	a = 4	a = 1
	b = 5	b = 0
12 Uhr mittags:	a = 3	a = 5
	b = 2	b = 6
5 Uhr nachm.:	a = 3	a = 4
	b = 2	b (1:100) = 0
10 Uhr abends:	a = 2	a = 4
	b = 2	b (1:100) = 0

	Probe B. 1:100 ccm[1])	Probe B. 1:100 u. 1:1000 ccm
7 Uhr morgens:	10	15
12 Uhr mittags:	12	16
5 Uhr nachm.:	ca. 50?	16 1:1000 = 2
10 Uhr abends:	11	10 1:1000 = 1

Auch bei dieser Temperatur geht bis zum Sauerwerden der Milch weder eine Zu- noch eine Abnahme in der Zahl der sporogenen Bakterien vor sich; vegetative Formen scheinen nicht vorhanden zu sein. Die beiden weiter aufbewahrten Milchproben waren am folgenden Morgen äußerlich noch unverändert, doch wies B einen schwach käsigen, A einen säuerlichen Geruch auf; am 3. Tage hatte sich ein festes Koagulum gebildet.

Versuch XI (Aufbewahrungstemperatur 5—7° C).

An 3 aufeinanderfolgenden Tagen wurden morgens und abends um 7 Uhr Kulturen angelegt, fernerhin täglich nur einmal, und zwar um 7 Uhr morgens. Am 6. Tage gerann die Milch der Probe B beim Pasteurisieren, weshalb die Untersuchung abgebrochen wurde; im übrigen hatte sie aber ihr Aussehen nicht verändert. Auch was Geruch und Geschmack anbetraf, war sie noch scheinbar normal. Nach weiteren 24 Stunden ertrug auch Probe A das Erhitzen nicht mehr, B hatte einen schwach säuerlichen, etwas kreidigen Geschmack angenommen. Am 9. Tage war Probe A schwach säuerlich, B besaß einen schwach käsigen Geschmack. Selbst nach 11 Tagen war Probe A äußerlich noch unverändert, B war dickflüssig-feinkörnig geworden, desgleichen nach 14 Tagen auch Probe A bei relativ schwach saurer Reaktion. Die Zahlen der auf den Kulturböden konstatierten Sporenbildnerkolonieen waren folgende:

		Ag. past. Probe A. 1:10 ccm.	Ausstrichkulturen. Probe A. 1:10 ccm.
1. Tag	morgens	a = 3	morgens a = 1
		b = 1	b = 1
	abends	a = 3	abends a = 0
		b = 3	b = 0
2. Tag	morgens	a = 0	morgens a = 0
		b = 0	b = 0
	abends	a = 1	abends a = 1
		b = 0	b = 0
3. Tag	morgens	a = 0	morgens a = 0
		b = 0	b = 0
	abends	a = 3	abends a = 2
		b = 0	b = 0
5. Tag	morgens	a = 1	morgens a = 0
		b = 2	b = 0
6. Tag	morgens	a = 1	morgens a = 0
		b = 0	b = 0
7. Tag	morgens	a = 2	morgens a = 0
		b = 1	b = 0

1) Die von 1:10 ccm angelegten Platten waren zu stark besetzt. Was den Befund in Probe B um 5 Uhr anbetrifft, so muß wohl hier eine Verwechslung mit der nächst höheren, 1:10 ccm Verdünnung, stattgehabt haben, vielleicht wurde auch die bei dieser Verdünnung benutzte Pipette versehentlich nochmals gebraucht. Uebrigens ließe sich die ausnahmsweise hohe Zahl auch durch die ungleichmäßige Beschaffenheit des zugesetzten sporenhaltigen Materials (Heustaub) erklären.

	Probe B.	Probe B.
1. Tag morgens	1 : 10 ccm = 92	1 : 10 ccm = 50
	1 : 100 „ = 12	1 : 100 „ = 12
abends	1 : 10 „ = 168	1 : 10 „ = 42
	1 : 100 „ = 20	1 : 100 „ = 10
2. Tag morgens	1 : 10 ccm = 110	1 : 10 ccm = 40
	1 : 100 „ = 13	1 : 100 „ = 11
abends	1 : 10 „ = 105	1 : 10 „ = 26
	1 : 100 „ = 29	1 : 100 „ = 9
3. Tag morgens	1 : 10 ccm = 98	1 : 10 ccm = 23
	1 : 100 „ = 9	1 : 100 „ = 10
abends	1 : 10 „ = 106	1 : 10 „ = 25
	1 : 100 „ = 15	1 : 100 „ = 7
5. Tag morgens	1 : 10 ccm = 81	1 : 10 ccm = 30
	1 : 100 „ = 10	1 : 100 „ = 7
6. Tag morgens	1 : 10 ccm = 83	1 : 10 ccm = 30
	1 : 100 „ = 6	1 : 100 „ = 5
7. Tag morgens	1 : 10 ccm = 90	1 : 10 ccm = 40
	1 : 100 „ = 11	1 : 100 „ = 4

Wie es zu erwarten war, sehen wir auch bei einer Aufbewahrungstemperatur von 5° C innerhalb 7 Tagen in der pasteurisierten Milch weder eine Abnahme der Keimzahl, die für ein Auskeimen der Sporen sprechen würde, noch in der rohen Milch eine zunehmende Zahl. Vegetative Keime sind nicht vorhanden, denn auf den Ausstrichkulturen finden wir, offenbar der für ein Auskeimen der Sporen ungünstigen Bedingungen wegen, durchweg sogar eine geringere Zahl.

In den ersten Tagen nach der Aussaat gelang es nur mit der größten Mühe, die Sporenbildnerkolonieen der Ausstrichkulturen aus der Menge der vorhandenen anderen Arten herauszufinden, nachdem aber die Kulturen einige Tage im Thermostaten, dann, der zu befürchtenden Austrocknung des Nährbodens wegen, bei Zimmertemperatur gehalten, über eine Woche alt geworden waren, konnte die erfreuliche Entdeckung gemacht werden, daß sich alsdann die gesuchten Kolonieen durch ihren Habitus schon dem bloßen Auge kenntlich machten; denn während alle anderen Kolonieen höher und glänzend erschienen, waren die der Sporenbildner flach und matt (oft von mißfarbenem, kalkigem Aussehen). Besonders aber zeichneten sie sich dadurch aus, daß sie, gegen das Licht gehalten, auf der betreffenden Platte sich als undurchsichtige Flecke abhoben. Zwar wachsen Kokkenkolonieen auf Agarplatten ebenfalls oft undurchscheinend, doch ließen diese bei 100-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop nicht jene charakteristische Struktur erkennen. Die Kulturen mußten ohnehin mindestens 8 Tage lang aufbewahrt werden, um allen vorhandenen Sporen Zeit und Gelegenheit zum Auswachsen zu geben.

Die Verteilung der Arten blieb, soweit beobachtet, zu allen Zeiten konstant. Es wurden neben vereinzelten Keimen von Bac. megatherium und noch seltener Bac. mycoides auch in Probe B der Hauptmenge nach stets Vertreter der Heu- und Kartoffelbacillengruppe angetroffen, die ungeahnt viele, durch diese oder jene Eigenschaft verschiedene Organismen aufweist. Charakteristisch für sie ist ihre Hautbildung und das Wachstum auf Kartoffel, das als absolutes Unterscheidungsmerkmal für die einzelnen Rassen zwar hinfällig, stets aber charakteristisch genug ist, um danach die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe konstatieren zu können. Der Belag auf diesem Nährboden, zunächst schleimig, später mehr oder weniger trocken, bildet ein fein- bis grobmaschiges Netzwerk in großen oder kleinen Falten, die Farbe ist

weiß, grau, gelblich, rötlich, braun bis schwarz in den verschiedensten Schattierungen. Schon Globig (1) machte an seinen, aus Erde isolierten Vertretern dieser Gruppe die Beobachtung, daß die gewachsenen Kolonieen sich nicht bloß nach der Farbe, sondern auch nach der Größe und Höhe der gebildeten Falten unterscheiden ließen. Jedenfalls wäre es eine lohnende Aufgabe, diese Bakteriengruppe näher zu studieren.

Einen der von mir isolierten, sehr oft in der Milch vertretenen Stämme konnte ich mit dem von Globig (1) beschriebenen Bac. mesentericus ruber identifizieren. Die Sporen dieses Organismus, die genannter Autor, wie auch das Verhalten in Milch, nicht erwähnt, waren oval, 1 × 0,7 μ groß. Milch brachte er am 5. Tage bei alkalischer Reaktion zur Gerinnung, das Koagulum war weich. Nach Lehmann und Neumanns (1) Angabe (p. 366) gerinnt Milch nicht, nach Gruber (1), der neuerdings einen Beitrag zur Identifizierung dieses Organismus geliefert hat, tritt übereinstimmend mit meinem Befund eine Koagulatior in Milch bei höheren Temperaturen ein; es ist eben Tatsache, daß die Kartoffelbacillen ein Dicklegen der Milch nicht selten ganz unterlassen, bevor die Peptonisierung einsetzt. Was die Beweglichkeit des Bac. mes. ruber anbetrifft, so waren bei dem von mir untersuchten Stamme, entsprechend einem Hauptcharakter der ganzen Gruppe, nach 24 Stunden auf Kartoffel mit Ausnahme der langen Fäden bewegliche Stäbchen zu finden, desgleichen in Bouillon, dagegen nicht auf anderen Nährböden.

Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle auch einen fakultativ anaëroben Vertreter aus dieser Gruppe kurz zu beschreiben:

1. Mikroskopisches Bild.

Bewegliche, schlanke Stäbchen (3—5 × 0,8—0,9 μ) und lange, unseptierte Fäden, Sporen mittelständig oder etwas nach dem einen Ende gerückt, 1,5 × 1 μ groß, also breiter als die Stäbchen, wie Arthur Meyer dies für die meisten der von ihm beschriebenen Sporenbildner als zutreffend fand.

2. Beobachtungen auf verschiedenen Nährböden.

Auf Kartoffel charakteristisches Wachstum. Kolonieen in Gelatine zeigten im Jugendstadium pfahlwurzelförmige Ausläufer nach allen Seiten hin, später nahmen sie auch auf Agarplatten die Form kleiner Wattebäuschchen an, stets härter und kleiner als bei sonstigen Vertretern dieser Gruppe. Gelatine wurde verflüssigt, jedoch nur langsam, im Stich cylinderförmig, niemals vor dem 5. Tage; auf der Oberfläche befand sich, wie auch in Bouillonkultur, eine derbe, faltige Haut. Der Stichkanal trug, besonders im oberen Teile, zahlreiche feine Härchen, eine Erscheinung, die aber oft auch auf einen niedrigen Schmelzpunkt der Gelatine zurückzuführen ist. Schüttelkulturen und Stiche zeigten fakultativ anaëroben Charakter. Milch wurde am 10.—12. Tage weichgallertig zur Gerinnung gebracht, ohne Geruch und Säurebildung; die bei nachfolgender Auflösung erzeugte Flüssigkeit war von weißer Farbe. Der bei 30° gebildete Säuregrad betrug 0,7, bei 37° 1,9. Der Umstand, daß vorliegender Organismus die Milch so spät erst veränderte, ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß er zuvor einer anderen Lebensweise angepaßt war.

Kurz charakterisiert sei zum Schlusse auch der zuvor so oft erwähnte Sporenbildner, der sich durch eine auffällige Schollenstruktur seiner

Kolonieen auszeichnete. Es ist ein unbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden, 1—1,3 μ breit und meistens 4—8 μ lang, in Ketten gewöhnlich 4 μ lange Glieder bildend. In Tiefenkolonieen sind die Stäbchen im allgemeinen länger und bilden Fäden. Die Sporen sind oval, nicht so breit wie die Stäbchen und oft etwas nach einem Ende zu gelagert.

Gelatineplatten weisen nach 48 Stunden 2—3 mm große, schön irisierende graue Kolonieen auf, die bei schwacher Vergrößerung, besonders bei Ausschaltung des Spiegels, das Aussehen eines Gebirgsreliefs von kristallinischer Struktur zeigen; später wurde der Rand der Kolonie faserig, am 5. Tage bildet sich eine Verflüssigungsschale.

Agarplatten: Nach 24 Stunden läßt sich sehr deutlich an den Oberflächenkolonieen, die eine Größe von 1—2 mm erreicht haben, eine Schollenstruktur beobachten. Nach weiteren 24 Stunden ist diese bereits etwas verwischt, die grauen, undurchsichtigen Kolonieen sind 3—5 mm groß, sie werden im Alter flockig. Ueber 48 Stunden alte Kulturen lassen einen intensiven Mäusegeruch wahrnehmen. Die Kolonieen sind fadenziehend. Herr Prof. Dr. Burri hat diesen Organismus des öfteren in Erde beobachten können.

Aus diesen Untersuchungen erhellt zunächst einmal, daß Sporenbildner in der frischen Milch nur in geringer Menge und in der Regel nur in Sporenform vorhanden sind. Diese, wie auch die Vegetationsformen, falls solche überhaupt zugegen, vermehren sich bei Temperaturen unter 37° C, sogar bei künstlicher Anreicherung der Milch mit Sporenmaterial, nicht, sondern so wie sie in die Milch gelangt sind, bleiben sie, ohne auszukeimen liegen. Dies Verhalten wird bei Aufbewahrungstemperaturen unter 20° C der niedrige Wärmegrad bedingt haben, bei höheren Temperaturen der Antagonismus der in weitaus größerer Zahl vorhandenen anderen Bakterienarten, speziell der Milchsäurebakterien. Möglich ist es, daß bei Temperaturen über 37° C eine Vermehrung der Sporenbildner statthat, wie denn auch Ferguson (1) in seinen bei 42° C ausgeführten Untersuchungen als einen der vier in Betracht kommenden Erreger der spontanen Zersetzung, resp. Gerinnung der Milch, einen Vertreter aus der Heu- und Kartoffelbacillengruppe konstatierte; doch kommt ja ein solcher Wärmegrad bei der Aufbewahrung frischer Milch nicht in Betracht. Auch M. Düggeli (1) hat bei der bakteriologischen Untersuchung einer großen Zahl von Milchgärproben (Aufbewahrungstemperatur 38—40° C) in einem Falle reichliche Entwickelung der Bac. mesentericus feststellen können. In der pasteurisierten Milch geht natürlich mit der Zeit eine Vermehrung der Sporenbildner, falls solche vorhanden sind, vor sich; dabei war aber gemäß unseren, allerdings nur in beschränktem Maße ausgeführten Untersuchungen, unter aëroben Verhältnissen bei Aufbewahrungstemperaturen unter 40° C ein Faulen der Milch, von dem so oft gesprochen wird, verbunden mit typischem Gestank, niemals etwas zu bemerken; vielmehr wurde die Milch ohne Entwickelung eines auffallenden Geruches allmählich peptonisiert. Selbstredend darf eine solche auch nur erst in geringem Maße angegriffene Milch niemals als Nahrungsmittel dienen; sie kann auch durch Erhitzen nicht wieder genußfähig gemacht werden.

7. Obligat anaërobe Sporenbildner.

In den mit 1 und 1:10 ccm pasteurisierter Milch beschickten Hohen-Schicht-Kulturen der ersten fünf Versuche konnten anaërobe Bakterien nur selten beobachtet werden. Es trat hier vereinzelt der Bacillus putrificus coli (Bienstock) auf, der sich durch Entwickelung eines unangenehmen Geruches nach faulem Käse und Gasbildung leicht kenntlich machte. Dieser Organismus zeigt verwandschaftliche Beziehungen zu dem Bacillus oedematis maligni und dürfte als eine nicht pathogene Rasse desselben aufzufassen sein; wie ferner von Freudenreich seine früher als Clostridium foetidum lactis bezeichnete Bakterie als identisch mit Bac. oedematis maligni bezeichnete, so mag wohl auch Weigmanns (1) Paraplectrum foetidum zur Putrificus-Gruppe gehören. Einmal wurde gelegentlich der erwähnten Versuche ein tetanusähnlicher Organismus konstatiert, auf dessen Besprechung ich am Schlusse dieses Abschnittes noch zurückkommen will. In den mit nur geringen Mengen roher Milch geimpften Kulturen traten Anaërobier nicht auf, oder waren wenigstens unter den betreffenden Versuchsbedingungen nicht zu erkennen. Zum Nachweis dieser Organismen, die, von ganz vereinzelten Ausnahmen abgesehen, zur Gruppe der Sporenbildner gehören, mußten bestimmte Anreicherungsverfahren zur Anwendung kommen.

Zunächst wurde im Anschluß an Versuch VII in einfachster Weise dadurch eine gewisse Orientierung über das Auftreten dieser Organismen zu gewinnen versucht, daß jeweilen 5 ccm der bei 30° aufbewahrten Milchprobe an den bereits bekannten vier Zeitpunkten $^1/_4$ Stunde lang bei 80° C pasteurisiert und unter anaëroben Verschluß gesetzt wurden. Die Milchgläschen wurden temperiert und längere Zeit bei 30° im Thermostaten gehalten.

Schon Wright hatte die umständliche und zeitraubende Art und Weise der Kultur anaërober Bakterien mit Hilfe von Wasserstoff durch eine äußerst leichte und bequeme Methode ersetzt, dergestalt, daß auf den die betreffende Kultur verschließenden sterilen Wattepfropf eine bestimmte Menge NaOH und Pyrogallussäure gegossen wurde, die den Sauerstoff absorbierte; R. Burri hat dann diese Methode in der jüngst von J. Kürsteiner (1) näher beschriebenen Art und Weise verbessert und ich habe sie überall, wo anaërobe Verhältnisse geschaffen werden mußten, angewandt.

Die Milch in den anaërob verschlossenen Gläschen, in Doppelproben a und b, zeigte folgendes Bild:

1) Die um 8 Uhr angelegten Proben: Nach 24 Stunden a und b noch unverändert, nach 48 Stunden in beiden ein festes, bei a von einigen Glasblasen durchsetztes Koagulum in weißem klarem Serum schwimmend. Am 3. Tage wurde Gläschen a geöffnet und untersucht: Geruch schwach nach Buttersäure, auf Lackmuspapier geprüft schwach sauer. Im hängenden Tröpfchen unter dem Mikroskop unbewegliche Langstäbchen ohne Sporen, 5 $\times$ 1 μ groß, daneben etwas dickere mit körnigem Inhalt, ferner schmälere bewegliche Stäbchen. Es dürfte hier eine Buttersäuregärung stattgehabt haben. Gläschen b wurde weiter bei 30° aufbewahrt und zeigte nach 8 Tagen keine weitere Veränderung.

2) Die um 11 Uhr angelegten Proben: Bei a nach 48 Stunden eine schmale gelblich-weiße Serumzone unter der Rahmdecke, in geringer Ausdehnung auch seitlich, das Koagulum war fest; Probe b verhielt sich sehr ähnlich. In dem am 3. Tage geöffneten Gläschen a wurden jene an erster Stelle genannten Stäbchen gefunden. Die Reaktion war sauer, der Geruch nicht auffallend. Probe b hatte sich innerhalb 8 Tagen nicht weiter verändert.

3) Die um 2 Uhr angelegten Proben waren nach 48 Stunden äußerlich noch unverändert, nach weiteren 24 Stunden a nur am Boden und erst am 4. Tage vollkommen geronnen, bei ziemlich starker Ausscheidung weißen Serums. Beim Oeffnen kein auffallender Geruch, stark sauer. Es wurde Bact. Güntheri konstatiert. Probe b zeigte nach einer Woche noch ein unverändertes Aussehen.

4) Die um 5 Uhr beschickten Gläschen: Während das eine am 3. Tage noch unverändert erschien, war der koagulierte Inhalt des anderen bereits zur Hälfte, am 4. Tage bis zu einem kleinen Reste aufgelöst, der sich beim Umschütteln in dem trüben, wässerigen Serum vollkommen verteilte, beim Oeffnen schon durch den Gestank Bac. putrificus verratend. Probe b war ohne sichtbare Veränderung geblieben. In Milchzuckeragar-Hoher-Schicht wuchsen Kolonieen eines obligat Anaëroben vom Typus des Putrificus.

An den weiter aufbewahrten Proben b der 4 Zeitpunkte konnte man nach 2 Wochen folgendes beobachten:

Der Inhalt des um 8 Uhr beschickten Gläschens hatte sich nicht weiter verändert. Unter dem Mikroskop schmale Langstäbchen, die aber nicht zur Gruppe der Buttersäurebacillen gehörten, auch deutete das gänzliche Fehlen jeglichen Geruches nach Buttersäure auf Abwesenheit genannter Bakterien hin.

Auch das Bild in dem um 11 Uhr gefüllten Gläschen war das gleiche geblieben. In der geringen Serummenge waren keine Bakterien zu entdecken, im Koagulum aber gelang es Formen zu finden, die an Bact. Güntheri erinnerten; kein Geruch, stark sauer.

In Gläschen b 2 Uhr wie auch um 5 Uhr hatte keine Entwickelung stattgefunden, erst bei Zutritt von Sauerstoff trat am 5., resp. am 6. Tage Gerinnung ein, ohne daß ein irgendwie auffallender Geruch zu bemerken gewesen wäre. Es wurde hier eine Reinkultur von Mesentericus-Keimen konstatiert.

Diesen Befunden gemäß ist es also möglich, anaërobe Bakterien in 5 ccm pasteurisierter Milch lediglich schon durch Herstellen anaërober Verhälnisse nachzuweisen, und zwar waren es in vorliegendem Falle Bac. putrificus und Buttersäurebacillen, die sich schon durch Geruch und charakteristische Veränderung der Milch kenntlich machten. Auf die außerdem noch konstatierten Langstäbchen wird später noch zurückzukommen sein.

Im folgenden Versuche (VIII) wurde mit weiteren Anreicherungsverfahren und in mehreren Verdünnungen gearbeitet. Es kamen 2 Methoden der Anreicherung zur Anwendung: einmal wurden 10 ccm sterilisierter Milch mit je 1, 1 : 10 und 1 : 100 ccm der zu untersuchenden geimpft, es ist dies ein Anreicherungsverfahren, wie es bereits Botkin, allerdings in anderer Ausführung, benutzte, zum zweiten dienten Hühnereiereiweißwürfel in 10 ccm sterilem Leitungswasser als Nährboden, der mit den gleichen Aussaatmengen beschickt wurde. Passini und Achalme haben diesen Nährboden zum ersten Male angewendet, jedoch noch in der Weise, daß sie das Eiweiß unzerstückelt gebrauchten. Die betreffenden Nährböden wurden nach Wright-Burrischer Methode unter anaërobe Verhältnisse gebracht. Es wurde sowohl rohe (Probe A) als auch bei 80° C $^1/_4$ Stunde lang pasteurisierte Milch (Probe B) in schon bekannten Verdünnungen verarbeitet. Die täglich um 8, 11, 2 und 5 Uhr vorgenommenen Beobachtungen der Kulturen erstreckten sich auf einen Zeitraum von 3 Wochen, die Aufbewahrungstemperatur betrug 30° C.

Probe A: Nicht pasteurisiert.

1) Die Milchkulturen zeigten nach 24 Stunden in allen Verdünnungen und zu allen 4 Zeiten eine Gerinnung, wie sie Bact. Güntheri zu Wege bringt. Kleine Defekte, wie feine radiale Risse oder kleine Löcher, besonders am Grunde, dürften durch sehr mäßige Gasbildung, eventuell durch Coli oder Aërogenes hervorgerufen sein. Dasselbe Aussehen zeigten die Gläschen noch nach 3 Wochen.

2) In den Eiweißkulturen der entsprechenden Probe ließen sich in den mit 1 ccm Rohmilch geimpften Gläschen starke Flocken, in den mit 1 : 10 ccm beschickten

zunächst weiße Wolken wahrnehmen, die dann später ebenfalls deutlich feine Flocken erkennen ließen, während die Flüssigkeit an sich klar war. Die mit 1 : 100 ccm Milch beschickten Kulturen wiesen keinerlei Veränderung auf. Weiterhin wurde dies Bild in beiden Kulturen nur etwas markanter.

Beim Oeffnen der Gläschen nach 3 Wochen wurden in den Milchkulturen, wie vorauszusehen war, Güntheri-Keime weitaus in der Mehrzahl gefunden, ferner Kokken, deren Zahl mit fortschreitender Zeit abnahm; Kurzstäbchen konnten in mehreren angefertigten Präparaten nicht gefunden werden; auffallend waren aber vereinzelte Langstäbchen (4 × 0,7 μ), in der Länge stark variierend, zuweilen in langen, meist gekrümmten Fäden, nur sehr selten konnte ein kurzes bewegliches Stück, niemals Sporenbildung beobachtet werden. In den Eiweißkulturen konnte im großen ganzen ein gleicher Befund konstatiert werden. Ein auffallender Geruch war niemals zu bemerken, der Säuregehalt, durch Güntheri erzeugt, war in allen 1 ccm-Kulturen stark, mit weitgehender Verdünnung schwächer, mit fortschreitender Zeit stärker. Während anfangs, d. h. um 8 Uhr in 1 : 100 ccm bei nicht saurer Reaktion fast nur Kokken gefunden wurden, zeigten sich in der gleichen Verdünnung später, d. h. um 5 Uhr, kaum noch solche bei saurer Reaktion, hervorgerufen durch Bact. Güntheri. Auch hier wurden die eben erwähnten Langstäbchen konstatiert.

Probe B: pasteurisiert.

Bis zum 4. Tage blieben beide Nährböden in allen Verdünnungen unverändert. Aus den Notizen sei nur wiedergegeben, daß nach 3 Wochen der koagulierte Inhalt der 1 ccm-Milchgläschen zu allen vier Zeitpunkten zur Hälfte aufgelöst war, während die 1 : 10 und 1 : 100 ccm-Kulturen keine sichtbare Veränderung erfahren hatten. Die Eiweißwürfel waren in keinem einzigen Falle angegriffen, die 1 und 1 : 10 ccm-Kulturen trübe durch feine Flocken, 1 : 100 durchweg unverändert.

Beim Entfernen des anaëroben Verschlusses ließen die Milchkulturen nach 3 Wochen folgendes beobachten:

8 Uhr 1 ccm: Geruch gelinde nach Buttersäure, Reaktion schwach sauer. Es gelang, trotzdem beim vorausgegangenen Mikroskopieren bewegliche und unbewegliche 1,2 μ breite Stäbchen mit und ohne Sporen zu sehen waren, nicht, in Milchzuckeragar-Hoher-Schicht etwas anderes als verschiedene Mesentericus-Rassen zu isolieren, doch deutete der Geruch und der mikroskopische Befund auf das Vorhandensein auch eines Buttersäurebacillus hin. Das geöffnete Gläschen wurde, nur mit sterilem Wattepfropf verschlossen, bei 30° C weiter aufbewahrt. Nach 20 Tagen war alsdann ein unangenehmer Geruch nach alter schlechter Butter bemerkbar. Mikroskopische Präparate zeigten jetzt $^1/_2$ μ breite, verschieden lange Stäbchen, die angelegten Hohen-Schichten ergaben Vertreter der Mesentericus-Gruppe, die in Stichen mit zahlreichen haarförmigen Seitenzweigen im Stichkanal gleichmäßig stark bis in die Tiefe wuchsen.

11 Uhr 1 ccm: Kein auffallender Geruch, ganz geringe Gasbildung. In den angelegten Milchzuckeragar-Hohen-Schichten traten vereinzelt punktförmige Kolonieen auf, die unbewegliche dünne Stäbchen (5 × 0,5 μ) bargen, von denen aber durch Abstiche auf den gleichen Nährboden kein Wachstum zu erhalten war. Vom anaëroben Verschluß befreit, nach 20 Tagen ranziger Geruch, die Reaktion war schwach sauer. Es wurden die gleichen Organismen wie vorhin gefunden.

2 Uhr 1 ccm: Unbestimmter Geruch, einige Gasbläschen. Hohe-Schicht-Kulturen zeigen punktförmige Kolonieen, von denen aus flügelförmig Gasspalten ausgingen, und die stets stark involvierte unbewegliche Langstäbchen bargen. Ich will hier gleich vorwegnehmen, daß sie auch in den nachstehend beschriebenen Eiweißkulturen auftraten; es gelang nicht, sie bei direkter Uebertragung auf Milchzuckeragar zu kultivieren. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachtet, besaßen die betreffenden Kolonieen in der Schicht ein wolliges Aussehen, die von ihnen ausgehenden feinen Spalten waren mit Bakterienmasse ausgefüllt, die Organismen 0,6—0,8 μ breit und verschieden, gewöhnlich 3—5 μ lang, doch wurden auch Fäden von 10 μ und darüber beobachtet. Außer diesen Organismen war noch Bac. mesentericus zu konstatieren. Nach 20 Tagen zeigte die Probe sauren Geruch und Geschmack; mittels Kultur in Hoher-Schicht wurde Bac. mesentericus und ein später noch zu beschreibender Tetanus-ähnlicher Organismus isoliert.

5 Uhr 1 ccm: Geruch intensiv nach Buttersäure, ziemlich stark sauer. 1,1 μ breite, meist 5 μ lange bewegliche und unbewegliche Stäbchen, daneben Spindelformen, 4—5 × 2—3 μ groß, mit länglicher Spore, stets lebhaft beweglich, ihr Inhalt wurde durch Jod-Jodkalium gleichmäßig dunkel, braun gefärbt. 1 : 10 und 1 : 100 ccm wiesen

ein unverändertes Aussehen auf, auch später veränderten sie sich nicht. Aus Hoher-Schicht wurde der unbewegliche Buttersäurebacillus isoliert, die beweglichen Organismen konnten nicht gefunden werden, wohl aber jene kleinen Kolonieen mit den scheibenförmigen Spalten. Nach 20 Tagen (bei Luftzutritt also) waren gleiche Formen wie vorhin, jedoch niemals Spindelformen zu beobachten. Hohe-Schichten zeigten anaërobes Wachstum und Gasbildung. Es gelang 3 verschiedene Arten daraus zu isolieren: in einer großen, stark fadenziehenden Kolonie von unregelmäßiger Gestalt, die im Nährboden gelblich-weiß, bei 100-facher Vergrößerung homogen gelb erschien und am Rande durcheinandergehende kurze Fasern aufwies, so daß dadurch nahezu der Anschein einer körnigen Struktur erweckt wurde, waren dicke bewegliche Stäbchen, meistens 5 μ lang, 1—1,2 μ breit, zu finden. Daneben Spindelformen, die bis 3 μ Breite und gewöhnlich 5 μ Länge aufwiesen, in allen Formenvariationen bis zum regelmäßigen Stäbchen, einzeln und in Ketten; durch Jod-Jodkalium wurde ihr Inhalt blau gefärbt; Sporen wurden nicht gesehen. Zum zweiten wurden in einer kleineren Kolonie Stäbchen von 4 × 1,1 μ Größe in Ketten beobachtet, die sich in eigentümlicher Weise vor- und rückwärts bewegten, drittens unbewegliche Clostridien ohne Granula mit kreisrunder mittelständiger Spore, die, wie auch die ersteren, der Gruppe der Buttersäurebacillen angehören dürften. Bac. putrificus war nicht vorhanden; schließlich wurde auch noch eine Mesentericus-Rasse gefunden.

Die mit 1 : 10 und 1 : 100 ccm geimpften Milchkulturen aller 4 Zeitpunkte hatten sich innerhalb drei Wochen unter anaëroben Verhältnissen nicht verändert und wiesen auch vom anaëroben Verschluß befreit, und bei 30° C weiter aufbewahrt, mit Ausnahme des um 2 Uhr mit 1 : 10 ccm beschickten Gläschens, dessen Inhalt am 10. Tage durch Bac. mesentericus zur Gerinnung gebracht wurde, einen ganzen Monat lang keinerlei Veränderung und keine Organismen auf.

Befund in den Eiweißkulturen beim Entfernen des anaëroben Verschlusses nach 3 Wochen:

8 Uhr 1 ccm: Fäkalgeruch, dabei etwas nach Buttersäure; Reaktion sauer. Im mikroskopischen Bilde: bewegliche Langstäbchen verschiedener Form und Clostridienähnliche bewegliche Organismen. 1 : 10 ccm: Kein Geruch, nicht sauer. Vertreter aus der Mesentericus-Gruppe vorhanden. 1 : 100 ccm: Unberührt. Der Geruch nach Buttersäure, der mikroskopische Befund und die Gasbildung in Milchzuckeragar-Hoher-Schicht zeigten wieder Vertreter aus der Buttersäurebacillengruppe an.

11 Uhr 1 ccm: Geruch nach Käse, sauer. Aehnliche Organismen wie um 8 Uhr, zudem wurde aus Hoher-Schicht ein Putrificus-Stamm isoliert, der sich dadurch auszeichnete, daß er im Milchzuckeragar-Stich, besonders in der oberen Partie weitgehende Aestchen bildete. Die Beschaffenheit der Impfnadel trug an dieser Erscheinung keine Schuld, denn auch bei Verwendung vollkommen glatter Nadeln trat diese Eigentümlichkeit immer wieder auf; die wolligen, kugelförmigen Kolonieen waren außerdem nicht so harter Konsistenz, wie sonst Bac. putrificus coli (Bienstock) sie bildet. Milch wurde unter gleichen Verhältnissen rascher angegriffen, indem bereits am 4. Tage morgens die Hälfte des Nährbodens aufgelöst war; dabei war der erzeugte Fäulnisgeruch nicht so intensiv. 1 : 10 und 1 : 100 ccm: unverändert.

2 Uhr 1 ccm: Unbestimmter Geruch nach Käse und H_2S. Aus den Hohen-Schichten wurde Bac. putrificus und ein anaërober Gasbildner, ein bewegliches, gewöhnlich 5 × 0,5 μ großes, Langstäbchen isoliert. Anaërobe unbewegliche, 1—1,2 μ breite, sehr verschieden lange Stäbchen ohne Sporen ließen den unbeweglichen Buttersäurebacillus vermuten. Sie wurden auch in der 1 : 10 ccm-Kultur und zwar ausschließlich gefunden. 1 : 100 war unverändert.

5 Uhr 1 ccm: Geruch nach schlechtem Käse, schwach sauer. Auch hier wurden breitere und schmälere Langstäbchen gefunden, 1 : 10 und 1 : 100 unverändert. Aus Hoher-Schicht wurde ein Vertreter aus der Heu- und Kartoffelbacillengruppe isoliert, der in Stichkulturen oben keine Ausbreitung zeigte und mit zahlreichen haarförmigen Ausläufern nach allen Seiten ebenso kräftig auch in der Tiefe wuchs, ferner wurde ein Plectridium, das gleich näher beschrieben werden soll, und zuletzt ein Bac. putrificus, der in Milchzuckeragarstich unterhalb der Oberfläche, dort wo das anaërobe Wachstum ansetzte, ein umfangreiches Schirmchen bildete, eine Eigenschaft, die aber nicht konstant war; im übrigen zeigte dieser Organismus alle charakteristischen Eigenschaften eines Bac. putrificus coli (Bienstock).

Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich unter den beobachteten Langstäbchen auch der in neuester Zeit von zwei französischen Forschern, Tissier und Gasching, sehr häufig in der Milch gefundene und von

ihnen mit dem Namen Bacillus lactopropyl-butyricus non liquefaciens belegte Organismus, der aber wahrscheinlich nur eine Rasse des von Schattenfroh und Grassberger beschriebenen beweglichen Buttersäurebacillus ist und wieder einige Analogieen mit dem von Fitz gefundenen, leider nicht in Reinkultur beobachteten Bacillus aufweist, befunden hat; der bewegliche Buttersäurebacillus dürfte, wie das Auftreten beweglicher Clostridien schließen ließ, jedenfalls vorhanden gewesen sein.

Die in diesem Versuche in den verschiedenen Kulturen beobachteten dünnen Stäbchen waren:

1) fakultativ anaërobe Organismen aus der Gruppe der Heu- und Kartoffelbacillen,

2) anaërobe Gasbildner, und zwar einmal die in Hoher-Schicht in punktförmigen Kolonieen mit flügelartigen Gasspalten gefundenen Langstäbchen, sowie ein weiterer, ähnlicher Organismus,

3) Tetanus-ähnliche Stäbchen und

4) ein Plectridium, das sich beim Weiterverfolgen als ein fakultativ anaërober Organismus herausstellte.

Von diesen Organismen sei hier der Tetanus-ähnliche näher beschrieben:

Es ist ein schlankes, scharfkantiges Stäbchen, 4—5 $\times$ 0,5—0,6 μ groß, das sich schlängelnd fortbewegt, einzeln oder zu zweien, selten auch in kurzen Kettchen auftritt. Sporen am Ende des Stäbchens sehr deutlich abgesetzt, kreisrund und im Durchmesser die Breite des Stäbchens um das Doppelte übertreffend.

Milchzuckeragarstich: Nach 24 Stunden schwaches Wachstum, in der Mitte des Stichkanals oder streckenweise auftretend, nach 3 Tagen im gesamten Stichkanal, nach unten zu bedeutend stärker; knötchentragend. Später bildet der kräftige Stich oben eine scharf abgegrenzte Spitze, die mitunter die Oberfläche erreichen kann.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Anaërobes Wachstum, ca. 1 cm unterhalb der Oberfläche beginnend, nach 24 oder 48 Stunden Gasbildung. Kolonieen, wie auch in Hoher-Schicht, annähernd scheibchenförmig, bei 100-facher Vergrößerung von körniger Struktur, oft mit faserigen, ganz kurz verästelten Ausläufern versehen. Es bildet sich milchiges Kondenswasser.

Milch: 30°, anaërob verschlossen, nach 24 Stunden unverändertes Aussehen, nach 48 Stunden Gasbildung, ohne sonstige sichtbare Veränderung; bis zum 7. Tage noch das gleiche Bild. Am 9. Tage festes Koagulum und weißes Serum, das am 10. Tage fast die Hälfte des Volumens einnimmt. Beim Oeffnen kein auffallender Geruch, Säuregrad = 6, ein Kontrollgläschen wurde weiter beobachtet: es behielt das eben beschriebene Bild bei, d. h. das von Gasspalten und Löchern durchsetzte Koagulum wurde nicht aufgelöst, sondern es blieb bei einer Serumauspressung.

In gewöhnlicher und Molkengelatine wurde infolge der niedrigen Aufbewahrungstemperatur in der Regel kein Wachstum erhalten.

Der von mir isolierte unbewegliche Buttersäurebacillus verhielt sich wie der von Schattenfroh und Grassberger (1 u. 2) beschriebene Granulobacillus saccharobutyricus immob. liquefaciens, Gelatine wurde verflüssigt, Milch unter Entwickelung reichlicher Gase, wodurch das Kasein an die Oberfläche geführt wurde, zur Gerinnung gebracht. Bei 37°, anaërob verschlossen, machte sich bereits nach 12 Stunden Gärung bemerkbar, die sich dann zur typischen Buttersäuregärung entwickelte. Zugleich wurde die bereits auch von anderer Seite in hiesigem Laboratorium gemachte interessante Beobachtung bestätigt gefunden, daß der Organismus auch unter aëroben Verhältnissen eine Gärung hervorrufen kann. In zu gleicher Zeit aufgestellten und nur mit einem sterilen Wattepfropf verschlossenen Milchgläschen zeigte

sich nach 24 Stunden noch keine sichtbare Veränderung, nach 48 Stunden aber setzte eine typische Buttersäuregärung ein. Der Geruch nach Buttersäure erschien in den aëroben Kulturen deutlicher.

Rodella (1) gibt als vorläufige minimale Zahl der vorhandenen Anaëroben pro 0,1 ccm Milch 1—3 an; soviel Keime kann man gelegentlich einer Untersuchung von 0,1 ccm wohl antreffen, jedoch wird dies nicht immer der Fall sein, die Minimalzahl von 10—30 Keimen pro Kubikcentimeter dürfte nach unsern, allerdings nur in beschränkter Zahl ausgeführten Untersuchungen, zu hoch gegriffen sein. In der frischen Milch werden die Anaërobier zufolge des vorhandenen Sauerstoffs, namentlich aber der Konkurrenz anderer Bakterien wegen, niemals eine merkbare Wirkung hervorrufen können; in der pasteurisierten Milch allerdings werden sie sich unter günstigen Verhältnissen, speziell bei zu lange dauernder Aufbewahrung der Produkte, in unangenehmer Weise bemerkbar machen.

8. Die Coli-Aërogenes-Gruppe.

Was die Coli-Aërogenes-Gruppe anbetrifft, so machten sich ihre Vertreter in den Hohen-Schicht-Kulturen durch Gasbildung leicht kenntlich; im übrigen aber lag immerhin, zumal in morphologischer Hinsicht, die Gefahr nahe, sie mit anderen Kurzstäbchen zu verwechseln, weshalb stets Milchzuckeragar-Schüttelkulturen zur sichern Charakterisierung herangezogen werden mußten.

Wir haben uns schon bei den ersten 6 quantitativen Versuchen bemüht, die Vertreter der in Frage stehenden Gruppe zu verfolgen. Da aber die angewandten Kulturverfahren sich für diesen Zweck wenig eigneten, verzichten wir auf die Wiedergabe der betreffenden Befunde und teilen nur die folgenden mit, bei welchen Hohe-Schicht-Kulturen vereint mit Oberflächenplatten zur Anwendung kamen.

I. Die Untersuchungsergebnisse der Milchproben aus Stall I bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen.

1) Versuch XII, Aufbewahrungstemperatur 5—7° C.

Es wurden in diesem Versuche die Hohen-Schichten mittels einer großen Platinöse angelegt und zwar stets genau in der gleichen Weise, so daß die abgeglühte Oese präzise bis zu einer Marke in die gut durchmischte Milch getaucht wurde. (Ein Durchschütteln der Milch war schon aus dem Grunde geboten, weil sich bei längerem Stehen die Coli- und Aërogenes-Stäbchen in den oberen Schichten ansammeln.) Aus dem ersten geimpften Milchzuckeragargläschen wurde nach Abflammen der Oese eine Uebertragung in ein zweites gemacht; eine weitere Uebertragung erwies sich als überflüssig.

Es zeigte sich dann:

in	den	Kulturen	vom	Morgen	des	1.	Tages	kein Gas
„	„	„	„	Abend	„	1.	„	Gas
„	„	„	„	Morgen	„	2.	„	kein Gas
„	„	„	„	Abend	„	2.	„	kein Gas
„	„	„	„	Morgen	„	3.	„	Gas
„	„	„	„	Abend	„	3.	„	Gas und so fort,

so daß am 11. und 14. Tage auch auf der zweiten Verdünnung Gas zu konstatieren war. Ein Vorversuch, der in eben dieser Weise ausgeführt worden war, hatte eine fast gleiche Erscheinung gezeigt. Auch hier war am 1. Tage, diesmal aber auch morgens, Gasbildung zu bemerken, am

2. Tage morgens jedoch nicht, abends nur eine kleine Gasblase; von da ab zeigte sich wie zuvor zunehmende Gasbildung bis zum Schlusse. Eventuell handelte es sich bei dem anfänglichen Ausbleiben der Gasbildung um eine bakterizide Erscheinung der Milch.

Urheber der Gasbildung war in diesem Falle ein schwach bewegliches Kurzstäbchen. Die Zahl der Kolonieen ließ sich anfangs in der Schicht nicht feststellen, obgleich der Organismus im Kondenswasser und in den Gasspalten nachgewiesen wurde. Auf den Plattenkulturen war er bislang nicht gefunden worden; am 4. Tage aber konnte er in der Schicht zu 20 Proz. der Gesamtzahl konstatiert werden, am 9. zu 15 Proz., am 11. zu 24 Proz. (5 von 21 Kolonieen), am 14. Tage war eine größere absolute Zahl vorhanden, ob sie aber auch prozentualiter zugenommen hatte, konnte nicht nachgewiesen werden, da der Agarcylinder vollkommen zersprengt war. Auf den Gelatineplatten wurden sie erst am 11. Tage, und zwar zu 2 Proz. gefunden, die Platten vom 14. Tage waren verflüssigt. Auf Agar waren am 9. Tage 1 Proz., am 14. Tage 5 Proz. zu finden.

Es hat sich demnach dieser gasbildende Organismus in der bei 5 bis 7° aufbewahrten Milchprobe des Vor- wie des Hauptversuches vermehrt und ist daher wohl einer näheren Betrachtung wert.

Das mikroskopische Präparat im hängenden Tröpfchen zeigte Kurzstäbchen mit stark abgerundeten, nicht selten fast zugespitzten Enden, in der Größe auf den verschiedenen Nährböden bedeutend schwankend, desgleichen auch in ihrer Eigenbewegung nicht konstant. In gewöhnlicher Gelatine nach 24 Stunden $^3/_4 \times 2$ bis 3 μ große, hin und wieder schnell purzelnd-kreiselnd sich fortbewegenden Stäbchen, meist einzeln, jedoch auch zu zweien, selten in Fäden. Am 5. Tage war nur noch ein Schwanken und Zittern, sehr selten deutliche Eigenbewegung zu bemerken. Auf Molkengelatine waren die Zellen 2mal so groß, bei gleicher Kolonieengröße. Von Agarstrich (30°) entnommenes Material zeigte nur $2—3 \times 0,6$ μ große Individuen mit scheinbar nur Brownscher Bewegung. Auf Kartoffel 5×1 μ groß, öfters unseptierte Fäden, jedoch nur kurz, stets unbeweglich. In Bouillon und Milch waren die Organismen klein und unbeweglich. In den Oberflächen- und Tiefenkolonieen der später angelegten Agarplatten waren $0,8—0,9 \times 2—3$ μ große, nach 48 Stunden fast nur zitternd bewegliche Zellen zu finden. Nach 48 Stunden waren auf fast allen Nährböden an den Enden der Stäbchen punktförmige Verdichtungen wahrnehmbar.

Kulturelles Verhalten:

Fleischwasserpeptongelatineplatten: Am 4. Tage 1—2 mm große, grauglänzende, schwach irisierende Kolonieen von unregelmäßiger, rundlicher Gestalt mit undeutlicher Radialzeichnung, Rand gebuchtet. Gegen das Licht gehalten gelb durchscheinend, mit einer Verdichtung in der Mitte. Tiefliegende rundlich, $^1/_2$ mm groß. Bei 100facher Vergrößerung körnig und scharf berandet, tiefliegende rosettenartig.

Agarplatten: Nach 48 Stunden graue, ca. 2 mm große, flache, fast kreisrunde Kolonieen, die in der Mitte ein Spitzchen tragen, das von einer ringförmigen, schwachen Vertiefung umgeben ist; schwach irisierend. Nach 4 Tagen mehr oder weniger deutlich gelappt, im Maximum 3 mm groß. Tiefliegende kaum 1 mm groß, rund oval bis wetzsteinförmig. Bei 100facher Vergrößerung blaßgelb, körnig, der Rand leicht gewellt. Tiefenkolonieen dunkelbraun, körnig, am Rande zerbröckelt.

Gelatinestich (gewöhnliche und Molkengelatine): Nach 24 Stunden fadenförmiges Wachstum bis in die Tiefe, oben ganz kleine Auflagerung, die durchsichtigweiß und glänzend ist und klein bleibt. In Molkengelatine am folgenden Tage zahlreiche Gasblasen.

Milchzuckeragarstich: Am Stichkanal kurze Fortsätze, meistens bilden sich Gasspalten.

Agarstrich: 30° gleichmäßig dünner, durchscheinender Belag matt weiß, $^1/_2$ cm breit, am Rande gelappt, Wachstum bei 37° schwächer, Optimum bei 20°.

Molkengelatinestrich: Der Belag wird nur 1—2 mm breit.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Trübe durch die ganze Schicht, die durch starke Gasbildung vollkommen zerrissen ist.

Bouillon: Nach 24 Stunden trübe, nach 48 Stunden sehr kräftiger Bodensatz, der in weißen, kräftigen Fäden, später in großen Flocken aufwirbelt.

Kartoffel: Aeußerst schwacher, weißer, mattglänzender Belag.

Milch: Nach 24 Stunden bei sonst unverändertem Aussehen Gasblasen unter der Rahmdecke, am folgendem Morgen ein festes Koagulum, das Gaslöcher und Risse trägt; es erfolgt keine Auflösung. Der Säuregehalt beträgt nach 36 Stunden bei 30° C 8,6°, bei 37° C etwas weniger, am 10. Tage bei 30° C 9,7°, bei 37° C 8°.

Es ist dieser Gasbildner, wie die Beschreibung zeigt, ein Typus, der offenbar den Vertretern der Coli-Gruppe nahe steht, jedoch nicht in die Reihe der bereits beschriebenen paßt; schon sein Wachstumsoptimum bei 20° unterscheidet ihn von jenen. Er degenerierte in kurzer Zeit, das Gasbildungsvermögen nahm rasch ab und selbst auf Milch weitergeimpft gelang es nicht, ihn lebensfähig zu erhalten.

2) Versuch XVIII, Aufbewahrungstemperatur 20° C.

Nur am 2. Tage morgens war in Hoher-Schicht schwache Gasbildung auf 1:1000000 Verdünnung aufgetreten, hervorgerufen durch ein vereinzeltes Aërogenes-Stäbchen, das allerdings auch in einer Kolonie einer entsprechenden Gelatineplatte zu finden war.

3) Versuch XIX, Aufbewahrungstemperatur 30° C.

Hier wurden Vertreter der Coli-Gruppe zu sämtlichen Zeitpunkten der Probenahme konstatiert, und zwar:

um	$6^1/_2$	Uhr morgens	11	Proz.
„	$10^1/_2$	„ „	4	„
„	$2^1/_2$	„ nachm.	3	„
„	$6^1/_2$	„ abends	4	„

4) Versuch XX, Aufbewahrungstemperatur 37° C.

Nur um $6^1/_2$ Uhr abends, d. h. am Schlusse des Versuches, trat in Hoher-Schicht, sogar in den 1:1000000 und 1:10000000 ccm-Kulturen Gasbildung auf, erzeugt durch Coli und Aërogenes, die zu dieser Zeit auch auf den Platten sich bemerkbar machten, auf Gelatineplatten zu 15 Proz., auf Agarplatten zu 9 Proz. der Gesamtzahl.

II. Untersuchungsergebnisse der Milch aus Stall II bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen.

1) Versuch XIII, Aufbewahrungstemperatur 5—7° C.

Wie bei Verarbeitung der Milch, die aus Stall I stammte, wurden auch in diesem Versuche wieder die Hohen-Schichten mit einer großen Oese angelegt. Hier trat erst am 5. Tage ganz schwache Gasbildung auf, am 7., dem letzten Tage der Aufbewahrung, in intensiver Weise. Der Gasbildner war ein dem bereits beschriebenen sehr ähnlicher Organismus. In Hoher-Schicht konnte eine Vermehrung vom 5. bis zum 7. Tage konstatiert werden, auf Platten wurde der Organismus am Ende des Versuches zu 5 Proz. der Gesamtzahl festgestellt.

2) Versuch XIV, Aufbewahrungstemperatur 20° C.

1. Tag 8 Uhr morgens:	1:100 geringe 1:1000 keine	Gasbildung
2 Uhr nachm.:	1:100 1:1000	starke Gasbildung
8 Uhr abends:	1:1000 1:10000	kräftige Gasbildung
2. Tag 8 Uhr morgens:	1:10000 1:100000	desgleichen

In der Hohen-Schicht wurde ausschließlich Bact. coli gefunden, das auch auf den Plattenkulturen vertreten war, und zwar

1. Tag um 8 Uhr morgens	auf Ag.	zu	2 Proz.,	Gel.	0	Proz.
„ 2 Uhr nachm.	„	„	„ 1 „	„	0,5	„
„ 8 Uhr abends.	„	„	„ 1 „	„	0	„
2. Tag „ 8 Uhr morgens	„	„	„ 1 „	„	1	„

3) Versuch XV, Aufbewahrungstemperatur 20° C. Es war niemals Gasbildung bei Anwendung gleicher Verdünnungen wie in Versuch XIV zu konstatieren.

4) Versuch XVI, Aufbewahrungstemperatur 30° C. Auch hier waren keine Gasbildner in Hoher-Schicht bemerkbar, obgleich beim ersten Male, um 7 Uhr morgens, auf 1:10000 die Gesamtkeimzahl 104, beim letzten Male, um 7 Uhr abends, auf 1:10000000 36 betrug.

5) Versuch XVII, Aufbewahrungstemperatur 37° C. Die Hohe-Schicht-Kulturen ergaben folgendes:

6½ Uhr morgens	1:1000	42 Keime	kein	Gas
10½ Uhr „	1:1000	ca. 1000 „	stark	„
	1:10000	144 „	kein	„
2½ Uhr nachm.	1:100000	ca. 250 „	stark	„
	1:1000000	31 „	schwach	„
6 Uhr abends	1:1000000	132 „	stark	„
	1:10000000		„	„

Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 37° C lassen sich die Gasbildner, wie es scheint, auf Oberflächenplatten besonders gut verfolgen:

Um 10½ Uhr war unter 101 Kolonieen auf Gelatine und 84 Kolonien auf Agar noch keine einzige Coli- oder Aërogenes-Kolonie zu finden, obgleich 1:1000 Verdünnung der Hohen-Schicht bereits Gasbildung anzeigte, doch war diese Kultur sehr stark besetzt. 1:10000 Verdünnung ließ unter 144 Kolonieen keinen Gasbildner entdecken.

Um 2½ Uhr waren in der mit 1:1000000 ccm Milch beschickten Hohen-Schicht von 31 Keimen 4 Gasbildner (= 15 Proz. der Gesamtzahl), auf Gelatine unter 75 1 (mit 2 Proz. bewertet), auf Agar unter 146 2 (= 1,5 Proz. der Gesamtzahl).

Um 6 Uhr abends in 1:1000000 ccm Hoher-Schichtkultur 132 Kolonieen, und zwar ca. 50 Proz. Coli und Aërogenes; auf Agar 31 Kolonieen, wovon 8 der Coli-Aërogenes-Gruppe angehörten (= 26 Proz.); auf Gelatine 31 Kolonieen, davon 6 typische Coli-Kolonieen und 5, die schon ihrem Aussehen nach Aërogenes (=35 Proz.) erkennen ließen; sie waren höher, saftiger und undurchscheinend.

Bei typischen Vertretern von Coli einerseits und Aërogenes andererseits ist ein Unterschied schon im Bau der Kolonieen gegeben, doch gibt es viele Uebergangsformen, und speziell auf Agarplatten wird jede Mühe, eine Form als charakteristisch für den einen oder anderen Vertreter herauszufinden, scheitern. Harrison (2) sagt, daß Bact. coli einerseits, Bact. aërogenes andererseits als extreme Vertreter einer Reihe anzusehen seien, zwischen denen sich viele Unterarten eng aneinander schließen, und auch nach Steigers (1) Erfahrung z. B. können weder die morphologischen, noch die biologischen, noch die kulturellen Eigenschaften als Unterscheidungsmerkmale gelten. Doch bieten sich immerhin gewisse wertvolle Anhaltspunkte, die besonders in zweifelhaften Fällen wichtig sind. Zu den bereits bekannten Eigentümlichkeiten, die im kulturellen und physiologischen Verhalten, ferner in der Fähigkeit liegen, Eigenbewegung zu zeigen oder nicht, möchte ich noch hinzufügen, daß zum Unterschied von Bact. coli die gewöhnlich

etwas größeren Aërogenes in Präparaten im hängenden Tröpfchen ausschließlich einzeln und in regelmäßigen Abständen gelagert sind; ferner ist im hiesigen Laboratorium ein Unterschied in der Zusammensetzung des produzierten Gases beobachtet worden. Auch meinerseits wurde verschiedentlich bei Analysen, die in gewöhnlichen Gärkölbchen und nach einer anderen, noch nicht veröffentlichten Methode ausgeführt wurden, das Verhältnis von Wasserstoff zu CO_2 für Bact. coli wie 2 : 1, für Bact. aërogenes wie 1 : 1 oder $CO_2 > H$ gefunden.

Das relativ spärliche Auftreten dieser Organismen in den zur Untersuchung gelangten Proben beweist, daß die Milch reinlich gewonnen wurde, jedenfalls in erheblichem Grade mit Kuhkot nicht verunreinigt war.

9. Die alkalibildenden, nicht verflüssigenden Kurzstäbchen.

Schon gelegentlich der ersten Versuche fielen auf den Plattenkulturen, besonders auf den Agarplatten, durch die Größe ihrer Kolonieen und ihr zahlreiches Auftreten Organismen auf, die im mikroskopischen Präparat für Vertreter der Coli-Aërogenes-Gruppe zu halten waren. Wie die Beobachtungen in den einzelnen Versuchen ergaben, bilden sie eine große Gruppe, die recht viele nur durch geringe Differenzen verschiedene Vertreter umfaßt; die Unterschiede sind nicht durchgreifend genug, um die einzelnen als selbständige Species betrachten zu können. Alle zeigten, abgesehen von geringen Größendifferenzen, schon morphologisch große Uebereinstimmung; es waren Kurzstäbchen mit stark abgerundeten Enden, stets unbeweglich; alle wuchsen streng aërob, bildeten niemals Gas und ließen Milch äußerlich unverändert.

Um sie von der gasbildenden Coli-Aërogenes-Gruppe unterscheiden zu können, mußten Schüttelkulturen in zuckerhaltigen Nährböden angelegt werden; ferner wurden zwecks näherer Charakterisierung stets Abstiche auf Kartoffeln und Milch gemacht. In den Schüttelkulturen kam ihr ausgesprochen aërobes Wachstum ohne jegliche Gasbildung zum Ausdruck, auf Kartoffeln entstand nach 24 Stunden, oft schon früher, in charakteristischer Weise zunächst ein dunkelgrauer Fleck; der Bakterienbelag war nach 48 Stunden kräftig, doch niemals über die Impffläche hinausgehend, im allgemeinen von grauer Farbe, jedoch je nach der Rasse mit einem Stich ins rötliche oder gelblich-bräunliche, matt bis mattglänzend. Nach 2—3 Tagen verfärbte sich die ganze Kartoffel bläulich-schiefergrau. Obgleich sie Milch augenscheinlich nicht verändert, so ist doch diese Bakteriengruppe so harmlos nicht, denn wohl alle ihre Vertreter besitzen in geringerem oder stärkerem Maße die Fähigkeit Alkali, wohl Ammoniak und Abkömmlinge von diesem, zu bilden. Agar-Strich-Kulturen zeigten, sofern sie mit geringen Mengen einer schwachen alkoholischen Phenolphtaleinlösung versetzt waren, nach 48 Stunden deutliche Rötung. (Natürlich muß man sich davor hüten, zu viel des Reagens zuzusetzen, weil sonst das Wachstum der Organismen geschädigt oder unmöglich gemacht wird.) Uebergoß man stark bewachsene Agarplatten mit genannter Lösung, so entstand deutliche Rotfärbung, und zwar in Abstufungen, je nach dem Vorhandensein dieser oder jener Rasse. Mit dem Vermögen Alkali zu bilden, stand wohl ihre Fähigkeit, auch Riechstoffe produzieren zu können, in engem Zusammenhang, und zwar wurden Ammoniakderivate erzeugt, nicht zum mindesten Trimethylamin, wie der Geruch nach Heringslake verriet. Dieser unangenehme Geruch in verschiedenen Nuancen war auf allen Nährböden, mit Ausnahme von Milch, zu konstatieren, vorzüglich

auf Agarplatten, in Bouillon besonders deutlich beim Erwärmen oder nach Zusatz von NaOH.

Einen Vertreter aus dieser Gruppe konnte ich mit jenen, von R. Burri und M. Düggeli (1) als Erreger eines Falles von „Hundegeruch" in Milch ausführlich beschriebenen Organismen identifizieren. Er trat nur in festen Zooglöen auf, weshalb die Kolonieen im hängenden Tröpfchen nicht oder nur sehr schwer zu verteilen waren. Die Stäbchen ließen in kleineren Konglomeraten ein eigentümliches Zittern, jedoch niemals Eigenbewegung beobachten; die Einzelindividuen waren 1,5—2 $\times$ 3—4 μ groß, sehr selten zu nur kurzen Ketten vereinigt. Dieser Organismus war ausschließlich in Milch aus Stall II vorhanden, doch nur in geringer Anzahl.

Häufiger trat eine andere Rasse auf, die sich wieder dadurch auszeichnete, daß ihre gewöhnlich einzeln auftretenden Stäbchen in regelmäßigen Abständen gelagert waren, wodurch sie lebhaft an Bact. aërogenes erinnerten; ihre Beschreibung folgt:

A. Mikroskopischer Befund.

Das Material läßt sich leicht verteilen, keine Zooglöen und kein Zittern zu bemerken. Stäbchen 0,8—1 μ breit, in der Länge schwankend, meistens jedoch 1,5 μ lang, zuweilen annähernd Kokkenform zeigend, andererseits wieder kurz- oder unseptierte Fäden, die eine Länge von 40 μ erreichen können. Nach 3 Tagen, oft auch schon früher, findet man den Inhalt körnig oder an beiden Enden Verdichtungen (besonders auf Kartoffeln), desgleichen Auftreibungen der kurzen und langen Fäden, am auffallendsten auf Agarstrich, der bei 37° gehalten war; hier sind zuweilen bis zur Kugelform von 3 μ Durchmesser aufgeblasene, dann wieder keulen- oder schotenförmige Gebilde zu beobachten, die später zerplatzen und ihren körnigen Inhalt ausstreuen.

B. Verhalten auf den verschiedenen Kulturböden.

Molkengelatineplatten: Am 3. Tage 1 mm große, graue oder gelblich angehauchte flache Tröpfchen; die jungen Kolonieen lassen bei 100-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop meist einen rosettenförmigen Bau erkennen. Am 5. Tage 3 mm groß, von rundlicher, fast kreisrunder Gestalt, glänzend und schwach irisierend, die rosettenförmige Zeichnung ist nur noch ganz undeutlich als ein dunkler Fleck wahrzunehmen, der sich auch makroskopisch als weiße Verdichtung in der Mitte der Kolonie abhebt. Kolonie bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop körnig. Rand leicht gewellt und scharf begrenzt. Tiefenkolonieen dunkler.

Agarplatten bei 30°: Nach 48 Stunden 3 mm große, grauliche, glänzende Kolonieen von flacher Tropfenform, nahezu kreisrund, schwach irisierend. Es differenziert sich bis zum 8. Tage oft ein konzentrischer vertiefter Ring um ein Spitzchen in der Mitte, das bei durchfallendem Licht als dunkler Punkt erscheint, während die ganze Kolonie, wie auch auf Gelatine, eine gelbbraune, am Rande hellere Farbe zeigt. Bei 100facher Vergrößerung unter dem Mikroskop körnig, ganzrandig, leicht gebuchtet. Am 8. Tage haben die Kolonieen im Durchschnitt eine Größe von $^1/_2$ cm erreicht, sind schwach gelappt und weisen oft radiale Risse auf; ihre Konsistenz ist butterartig weich.

Molkengelatinestich: Wachstum fadenförmig, in der Tiefe schwächer, oben graue, unregelmäßig berandete Auflagerung, die bald die Glaswandung erreicht, Coli-ähnlich, aber etwas dicker. Der Stichkanal bleibt durchscheinend.

Agarstrich: Nach 24 Stunden bei 30° C $^1/_2$ cm breiter, fettglänzender Belag, auch im Alter schwach durchscheinend; am 8. Tage liegt scheinbar auf einem unteren, breiteren, schwach irisierenden Belag ein zweiter, der allmählich in ersteren übergeht. Der Rand ist oft eingerissen und an dieser Stelle etwas verdickt. Bei 37° deutlich schwächeres Wachstum.

Milchzuckeragarstich: Nach 24 Stunden eine kleine Auflagerung, die am 8.—10. Tage die ganze Oberfläche bedeckt, weißgrau, ohne Differenzierung. Wachstum im Stichkanal schwach und nicht bis in die Spitzen reichend.

Milchzuckeragar-Schüttelkultur: Wachstum höchstens 1 cm in die Tiefe gehend, oben ein Bakterienrasen.

Bouillon: Nach 24 Stunden bereits schwacher Bodensatz, am 5. Tage schwach trübe, am 8. Tage kräftiger Bodensatz, der beim Umschütteln Fäden zieht.

Kartoffel: Wachstum wie es weiter oben beschrieben wurde; der kompakte, matte Belag ist nach 8 Tagen nicht einheitlich, sondern, besonders am Rande, tropfig.

Milch: Bleibt auch bei 37 ° C ohne sichtbare Veränderung. Nach 14 Tagen ausgeführte Säurebestimmungen ergaben:

bei 30° C: 2,4°, bei 37° C: 1,5°, ein ander Mal
bei 30° C: 1,7°, bei 37° C: 0,3° Säure;

auch wiederholte, nach 10 Tagen ausgeführte Bestimmungen ergaben stets nur minimale Säuremengen. Junge Kulturen reagierten alkalisch oder neutral.

Eine andere Rasse, die in ihrem Wachstum, sei es in Kolonieen oder bei der Auflagerung auf Stichkulturen, radialen Bau zeigte, ließ sich im übrigen von der eben beschriebenen, nicht durchgreifend auseinanderhalten. Wieder eine andere Rasse zeigte größere Individuen, 2,5—3 $\times$ 1 μ; der Belag auf der nur schwach verfärbten Kartoffel war gelblich, später bräunlich, saftig glänzend und nur dünn, wie auch die Kolonieen und Auflagerungen flacher und ausgedehnter waren; stets gleichartig ohne welche Differenzierung. Milch reagierte am 10. Tage neutral. In Bouillon zeigten alle Rassen Neigung zur Hautbildung, indem sich an der Glaswandung ein Ring bildete, der dann später zu Boden fiel; es hängt diese Erscheinung natürlich mit der ausgesprochenen aëroben Lebensweise der Organismen zusammen.

Wohl deswegen, weil diese Bakterien auf den ersten Blick indifferente Milchbewohner zu sein scheinen und morphologisch eine Verwechselung mit Vertretern aus der Coli-Aërogenes-Gruppe einerseits, und, falls ihre Zellen, wie das nicht selten zu beobachten ist, verkürzt waren, mit Kokken andererseits, naheliegt, wurden sie bisher nicht weiter verfolgt. Beobachtet scheinen sie aber bereits mancherorts zu sein. Conn und Esten (1) z. B. dürften sie unter ihren „Neutral Bakteria" in frischer Milch gesehen haben; Orla Jensen (1) fand in frischer Butter stets „Aërogenes-ähnliche unbewegliche Bacillen, die aber luftbedürftiger und ohne Einwirkung auf Milch waren", nach seiner Meinung vielleicht Bac. lactis innocuus (Wilde), die ebenfalls zu dieser Gruppe zu rechnen sein dürften.

Es hat wohl keinen Wert und würde mit Schwierigkeiten verbunden sein, die einzelnen Rassen zahlenmäßig auseinander zu halten; ich habe daher in den folgenden Tabellen das Auftreten der ganzen Gruppe während der einzelnen Versuche in Prozentzahlen veranschaulicht.

Tabelle I.
I. Milchproben aus Stall I, bei einer Aufbewahrungstemperatur von 30° C

Vers.	Kultur	8 Uhr	11 Uhr	2 Uhr	5 Uhr
II	Gel.	10 (220 000)	9 (250 000)	24 (5 800 000)	20 (15 800 000)
	Ag.	7 (268 000)	9 (234 000)	35 (3 000 000)	20 (12 200 000)
III	Gel.	10 (570 000)	7 (1 600 000)	11 (9 000 000)	1,2 (88 000 000)
	Ag.	8 (450 000)	10 (2 000 000)	11 (22 000 000)	1 (42 000 000)
IV	Gel.	12 (167 000)	25 (177 000)	65 (1 600 000)	80 (20 000 000)
	Ag.	20 (148 000)	25 (149 000)	70 (1 500 000)	90 (16 000 000)
V	Gel.	20 (198 000)	(205 000) wie um 8 Uhr	30 (2 600 000)	15 (12 000 000)
	Ag.	16 (125 000)	(150 000)	33 (2 030 000)	30 (20 000 000)
VI	Gel.	21 (397 000)	25 (400 000)	35 (3 600 000)	23 (13 000 000)

Wie wir sehen, ist eine Vermehrung der Vertreter dieser Bakteriengruppe bei allen Temperaturen zu verzeichnen, selbst bei den für die

Milchsäurebakterien günstigen Wärmegraden, doch treten sie in diesem Falle infolge des starken Anwachsens letztgenannter prozentualiter in den Hintergrund; auf weitere Betrachtungen werden wir noch am Schlusse zurückkommen.

10. Andere ebenfalls nicht verflüssigende Kurzstäbchen.

Keine dieser Species spielt bei unseren Untersuchungen eine wesentliche Rolle, sie treten entweder nur zu Anfang des Versuchs auf, um dann zu verschwinden, oder lassen sich im Gange desselben nur vorübergehend erblicken.

Es wurden zunächst einmal stark lichtbrechende Kurzstäbchen, 1,3 $\times$ 0,5 μ groß, mit etwas zugespitzten Enden, einzeln und zu Zooglöen verbunden, in kleinen, meist punktförmigen Kolonieen gefunden. Sie waren in Versuch III und IV um 8 Uhr morgens zu 2 resp. 9 Proz. zu beobachten, später verschwanden sie, nur in erstgenanntem Versuche tauchte noch einmal um 5 Uhr auf Platte 1 : 1 000 000 ein Stäbchen dieser Art auf. In den übrigen Versuchen waren sie nur vereinzelt zu finden, jedoch in Milch beiderlei Herkunft vertreten.

Zum zweiten zeigten sich in Versuch V kokkenähnliche Kurzstäbchen, im Durchschnitt 1 μ groß, ausgesprochen aërob, die im Gelatinestich in der oberen Partie mit vielen feinen Ausläufern, in eine große Ausbreitung übergehend, wuchsen. Ihre Kolonieen waren auf Gelatine und Agar 1—2 mm groß, auf letzterem Nährboden von lederartiger Konsistenz, auf Gelatine bildeten sich weichere, zudem höhere, weiß durchscheinende Tröpfchen. In Milch erzeugten sie nach 24 Tagen keine sichtliche Veränderung, auch keinen merkbaren Geruch oder Geschmack, doch weil ihre Zahl mit der Zeit zunahm, mögen die betreffenden Verhältnisse kurz erwähnt sein.

Tabelle II.

II. Milchproben aus Stall I, bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen.

Vers.	Temp.	N. B.	1. Tag 8 Uhr morgens	1. Tag 8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 8 Uhr abends	3. Tag 8 Uhr morgens	3. Tag 8 Uhr abends
XII	5—7°	Gel.	20	22	30	43	43	51
		Ag.	15	8	5	5,4	10	15
			4. Tag 8 Uhr morgens	5. Tag 8 Uhr morgens	7. Tag 8 Uhr morgens	9. Tag 8 Uhr morgens	11. Tag 8 Uhr morgens	14. Tag 8 Uhr morgens
		Gel.	69	51	50	40	33	
		Ag.	42	55	56	39	35	8

Vers.	T.	Kultur	1. Tag 7 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 7 Uhr morgens	11½ Uhr
XVI	20°	Gel.	20 (122 000)	35 (315 000)	48	9 (567 000 000)	3,7 (1 260 000 000)
		Ag.	20	31	46	8	2,8
			6½ Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6½ Uhr abends	
XIX	30°	Gel.	32 (42 000)	10 (252 000)	13 (480 000)	1 (188 000 000)	
		Ag.	30	10	18	8	
			7 Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6½ Uhr abends	
XX	37°	Gel.	—	—	—	0 von 49 Kol.	
		Ag.	16 (78 000)	12 (84 000)	13 (1 500 000)	8 (58 000 000)	

Tabelle III.

III. Milchproben aus Stall II, bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen.

Vers.	Temp.	Kultur	1. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 8 Uhr morgens	3. Tag 8 Uhr morgens	5. Tag 8 Uhr morgens	7. Tag 8 Uhr morgens
XIII	5—7°	Gel. Ag.	35 34 (6 000)	11 13 (6000)	16 15 (4000)	durch Fl. (28 000) 8	verfl. (41 000 >1 = 0 v. 38 Kol.
			1. Tag 8 Uhr morgens	2 Uhr	8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	
XIV	20°	Gel. Ag.	10 4 (800 000)	6 5 (5 040 000)	26 25 (18 000 000)	3,5 9 (378 000 000)	
			1. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 1 Uhr
XV	20°	Gel. Ag.	10 11 (270 000)	2 4 (1 020 000)	8 6 (22 050 000)	10 10 (189 000 000)	3,5 5 (610 000 000)
			7 Uhr morgens	11½ Uhr	3½ Uhr	7 Uhr abends	
XVI	30°	Gel. Ag.	10 6,5 (980 000)	1,7 1,6 (28 970 000)	1 1 (205 000 000)	1 >1	= 1 von 148 Kol.
			6½ Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6 Uhr abends	
XVII	37°	Gel. Ag.	35 30 (204 000)	13 9 (2 275 000)	6 4,5 (28 000 000)	>1 >1 (200 000 000)	= 0 von 31 Kol. = 0 von 35 Kol.

Um 8 und 11 Uhr in 1 : 10 000 und um 2 Uhr in 1 : 100 000 je eine Kolonie auf der nächst höheren Verdünnung entsprechend mehr, 5 Uhr in 1 : 1 000 000 25 Kolonieen.

Auch eine bewegliche Art, 0,8 × 2 μ groß, in punktförmigen Kolonieen nebst einigen anderen Arten wurden vereinzelt beobachtet, es hat jedoch keinen Zweck, auch in die Besprechung dieser Species einzutreten, da keine derselben sich als bedeutungsvoll erwies, sie zudem auf allen gebräuchlichen Kulturböden nicht verfolgt werden konnten. Wir wollen sie daher zusammenfassen und als nicht verflüssigende Kurzstäbchen in den Tabellen am Schlusse neben den verflüssigenden in Prozentzahlen angeben.

11. Verflüssigende Kurzstäbchen.

Bedeutungsvoller als die eben erwähnte, im allgemeinen indifferente Bakteriengruppe ist das Auftreten verflüssigender Stäbchen in der Milch, eben weil sie die Fähigkeit besitzen, ein peptonisierendes Ferment auszuscheiden. Sie wurden in mannigfachen Arten und in nicht unbedeutender Anzahl gefunden.

1) Winzig kleine Organismen, auf welche die von R. Burri und M. Düggeli (1) gegebene Beschreibung eines in Milch einen bitteren Geschmack hervorrufenden Stäbchens genau paßt. Die rotbraunen, flockigen, in einem klaren Verflüssigungstrichter schwimmenden Kolonieen ließen makroskopisch anfangs Kokkenkolonien vermuten.

Diese Organismen wurden beobachtet: in Versuch III um 8 Uhr zu 20 Proz., um 11 Uhr zu 3 Proz., auf den höheren Verdünnungen um 2 und 5 Uhr traten sie nicht mehr auf, im IV. Versuche um 8 und 11 Uhr zu 12 Proz., um 2 Uhr in 1 : 100 000 ccm zu 6 Proz., um 5 Uhr des-

gleichen, in Versuch V um 8 Uhr zu 12 Proz., desgleichen um 11 Uhr, um 2 und 5 Uhr waren sie nicht mehr zu finden, in Versuch VI um 8 Uhr 21 Proz., um 11 Uhr 25 Proz., um 2 Uhr 14 Proz., um 5 Uhr 7 Proz.

Zwar konstatieren wir eine Zunahme ihrer Keimzahl, doch wurden sie von anderen Bakterienarten mehr oder weniger in den Hintergrund gedrängt; in letztgenanntem Versuche allerdings hatten sie sich besonders stark vermehrt und in ihrer Zahl sogar die verflüssigenden Kokken überholt. In den weiteren Versuchen, bei denen mit höheren Verdünnungen gearbeitet wurde, treten sie überhaupt nicht oder nur vereinzelt auf; in Milch aus Stall II wurden sie gleichfalls konstatiert.

2) $2 \times 1\ \mu$ große, nicht pigmentbildende, Gelatine nur langsam verflüssigende Stäbchen streng aërober Lebensweise; sie wurden nur im V. Versuche um 8 Uhr zu 6 Proz., weiterhin nicht mehr gefunden.

3) Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, $2—3 \times 0{,}8—1\ \mu$ groß, auch Fäden bildend. Ihre blaßweißen Kolonieen, flache, glänzende Tröpfchen, lagen in einer sehr seichten, stets trockenen Schale, nach 3 Tagen waren sie 1,5 mm groß. In Milch aus Stall I im XII. Versuche waren am 2. Tage morgens 10 Proz., am 3. Tage 13 Proz., in Versuch XIX um $10^1/_2$ Uhr 2 Proz. zu finden. In der Milch, die aus Stall II stammte, wurden sie ebenfalls beobachtet und zwar gelegentlich des XIV. Versuches um 8 Uhr morgens 5 Proz., um 2 Uhr 2,5 Proz., um 8 Uhr abends 5 Proz., am 2. Tag 8 Uhr morgens konnte unter 1550 Kolonieen auf der Platte noch eine derartige gefunden werden; im XV. Versuche traten sie ausschließlich morgens um 8 Uhr zu 8 Proz. auf.

4) In der Form an Bact. Güntheri erinnernde Kurzstäbchen, jedoch meistens länger als diese, in weißen, am 3. Tage 1 mm großen Kolonieen, deren Rand nicht scharf begrenzt, sondern, bei 100-facher Vergrößerung, deutlich brockig-körnig erschien. Nach 6 Tagen 2 mm groß, eine fest zusammenhängende, undurchsichtig-weiße Haut in einer reinen, ganzrandigen, tiefen Verflüssigungsmulde. Aërobes Wachstum, Milch wurde bei 30^0 unter undeutlicher Koagulation vom 4. Tage ab peptonisiert, wobei sich ein scharfer, käsiger Geruch entwickelte. In Versuch XVIII waren vertreten um 7 Uhr morgens 14 Proz., um 1 Uhr 18 Proz., um 7 Uhr abends 3,5 Proz., am 2. Tage um 7 Uhr morgens 0,5 Proz. der Gesamtzahl, um $11^1/_2$ Uhr waren sie nicht mehr zu finden; in Versuch XX um 7 Uhr morgens 3 Proz., um $10^1/_2$ Uhr keine. In den übrigen mit Milch aus Stall I angestellten Versuchen und in den aus Stall II stammenden Milchproben zeigten sie sich nicht.

5) $1—2 \times 0{,}5\ \mu$ große Stäbchen in Zooglöen und Kettchen, die Kolonieen lagen in einer flachen, kreisrunden Verflüssigungsschale und bildeten harte, weiße Scheibchen, deren Rand mit Hörnern und Zacken besetzt war. Nur in Versuch XIII wurden sie zu 30 Proz. der Gesamtzahl konstatiert, am 2. Tage desgl., ferner am 3. Tage zu 10 Proz.

6) Stäbchen von nur $1 \times {}^1/_4\ \mu$ Größe in ganz kleinen Kolonieen, in Milch aus Stall I, im XII. Versuche, am 3. Tage abends und am 4. und 5. Tage morgens vorübergehend 6,3 und 4 Proz.

7) In denselben Versuchen wurden auch schnell bewegliche, $2 \times 0{,}5\ \mu$ große Kurzstäbchen und zwar am 1. Tage abends 2,5 Proz. konstatiert, ihre grauen Kolonieen erreichten am 3. Tage eine Größe von 1,5 mm, im Stich verflüssigten sie Molkengelatine langsam schlauchförmig, Milch ließen sie bis zum 8. Tage ohne sichtbare Veränderung. Im IV. Ver-

suche betrug ihre Zahl um 8 Uhr 21 Proz. der Gesamtmenge, um 11 Uhr waren weniger, um 2 Uhr keine mehr vorhanden.

8) Bewegliche Kurzstäbchen, 1,5 × 0,6 μ groß, einzeln, zu zweien und in Fäden, Gelatine langsam verflüssigend; sie waren im VI. Versuche anfangs zu 13 Proz., später jedoch nicht mehr zu beobachten.

9) Bacterium prodigiosum wurde ganz vereinzelt in den ersten Versuchen gesehen.

10) Bacterium fluorescens trat interessanterweise in Milchproben beiderlei Herkunft nur bei niedriger Aufbewahrungstemperatur und erst nach längerer Zeit auf, und zwar bei Versuch XIII, Milch aus Stall II, 5—7° C, am 2. Tage 22 Proz., am 3. Tage 25 Proz., am 5. Tage 42 Proz., am 7. Tage 32 Proz. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 20° C wurde zweimal je eine vereinzelte Kolonie gefunden.

In den folgenden Tabellen habe ich das Auftreten von Bact. fluorescens durch die Buchstaben Fl bezeichnet. Eine Tabelle betreffend den Befund in den ersten (quantitativen) Versuchen kann diesmal nicht gegeben werden, sie würde zu lückenhaft ausfallen, und wir begnügen uns daher mit dem diesbezüglich zuvor Erwähnten. Das Plus- und das Minuszeichen im Kopfe der Tabellen bedeutet verflüssigende resp. nicht verflüssigende Organismen.

(Siehe Tabelle I und II p. 769 und 770.)

Wie aus den Tabellen ersichtlich, ist die Zahl der verflüssigenden Kurzstäbchen größer und ihr Auftreten andauernder als das der nicht verflüssigenden (natürlich mit Ausschluß der Gruppe der Alkalibildner).

12. Vertreter, die keiner der genannten Gruppen angehören.

Ein mehr zufälliger, wenn auch nicht seltener Bewohner der Milch war ein Vertreter der Aktinomyceten, Organismen, die oft im Boden, im Wasser, auch auf Pflanzen, z. B. Gramineen, vorkommen und daher naturgemäß leicht überall hin verschleppt werden können. Diese Pilze bilden ein verzweigtes Mycel und ihre festen bis lederharten Kolonieen zeigen einen strahligen Bau, was ihnen den Namen Aktinomyceten (Strahlenpilze) eingetragen hat. Charakteristisch ist ferner für sie, daß alle mehr oder weniger deutlich einen Modergeruch zu erzeugen im stande sind.

Ueber ihre Stellung im botanischen System herrscht zur Zeit noch große Unklarheit. Die meisten Autoren rechnen sie weder zu den Schizomyceten noch zu den Hyphomyceten, wie dies andere Forscher tun, sondern lassen sie als selbständige Klasse zwischen die beiden erstgenannten treten. Engler (1) rechnet die Aktinomyceten, in der Familie der Chlamydobakteriaceen, zu den Schizomyceten, während er die Reihe der Hyphomycetes (darunter die Familie der Tuberculariaceae) als Fungi imperfecti in die Abteilung der Eumyceten stellt. Lehmann und Neumann (1) sehen sie als eine natürliche, niedrige Gruppe der Hyphomyceten an. Sie stellen mit Gasparini das Genus Actinomyces auf, als 3. Genus der Familie der Aktinomyceten (während das 1. und 2. Genus von den Corynebakterien und den Mycobakterien gebildet wird, den Erregern des Rotzes, der Diphtherie, der Tuberkulose und der Lepra. Erst weitere phylogenetische Forschungen können dieser Gruppe den richtigen Platz im botanischen System zuweisen.

Farbstoffbildende und zugleich Gelatine verflüssigende Arten sind

Tabelle I.

I. Milchproben aus Stall I.

Versuch	Temperatur	Kultur	1. Tag 8 Uhr morgens +	1. Tag 8 Uhr morgens −	1. Tag 8 Uhr abends +	1. Tag 8 Uhr abends −	2. Tag 8 Uhr morgens +	2. Tag 8 Uhr morgens −	2. Tag 8 Uhr abends +	2. Tag 8 Uhr abends −	3. Tag 8 Uhr morgens +	3. Tag 8 Uhr morgens −	3. Tag 8 Uhr abends +	3. Tag 8 Uhr abends −
XII	5—7°	Gel.	10	5	10	0	10	0	0	0	5	0	6	0
		Ag.	10	2	0	2	0	0	0	0	6	0	2,5	0
			4. Tag 8 Uhr morgens		5. Tag 8 Uhr morgens		7. Tag 8 Uhr morgens		9. Tag 8 Uhr morgens		11. Tag 8 Uhr morgens		14. Tag 8 Uhr morgens	
		Gel.	3	0	2	6	0	0	5 Fl	0	35 Fl	0	verflüssigt	
		Ag.	7	0	2	13	0	0	4 Fl	0	30 Fl	0	42 F	1 0
XVIII	20°		1. Tag 7 Uhr morgens		1 Uhr		7 Uhr abends		2. Tag 7 Uhr morgens		11½ Uhr			
		Gel.	—	— (122 000)	18	3,5 (315 000)	3,5	0 (5 400 000)	0,5	0 (567 Mill.)	0	0 (1 260 000)		
		Ag.	14	8	0	0	0	0	0	0	0	0		
XIX	30°		6½ Uhr morgens		10½ Uhr		2½ Uhr		6½ Uhr abends					
		Gel.	0	7 (42 000)	12	0 (252 000)	0	0 (480 000)	0	0 (188 Mill.)				
		Ag.	0	0	4	0	0	0	0	0				
XX	37°		7 Uhr morgens		10½ Uhr		2½ Uhr		6½ Uhr abends					
		Gel.	—	— (78 000)	—	— (84 000)	—	— (1 500 000)	—	— (58 Mill.)				
		Ag.	3	3	3	0	0	0	0	0				

Bouillon: Schwache, später stärkere Trübung, konzentrierter Bodensatz, der in Fäden aufwirbelt. Die Masse der Bakterienansammlung am Boden nimmt zu und wird flockig, während der Nährboden sich aufklärt.

Milch: Bei 30° am 3. Tage unter der Rahmdecke eine ganz schmale, gelbe Serumzone, schwacher, unbestimmter Geruch nach Käse. Nach dem Neigen des Gläschens nimmt die Milch ihr vorheriges unverändertes Aussehen an. Die Dicklegung kann unterbleiben; erfolgt sie, so entsteht ein weiches, homogenes Koagulum. Am 10. Tage ist mindestens die Hälfte des Nährbodens peptonisiert, das Aufgelöste mißfarben rotgelb, schwach trübe; scharfer Käsegeruch.

Säuregehalt am	4. Tage	1,4°
„ „	10. „	3,6°

Bei 37° erfolgte nie Gerinnung, die Milch wurde mißfarbig und es entwickelte sich ein unangenehmer Geruch.

Dieser Organismus wurde in Milch beiderlei Herkunft gefunden; der aus Stall II stammende, eben beschriebene unterschied sich von jenem, in den Milchproben des I. Stalles gefundenen nur dadurch, daß sich bei diesem auf Molkengelatine die Kolonieen ganz auflösten, am Rande dagegen meistens ein Bakterienkranz stehen blieb. Was seine Verbreitung anbetrifft, so wurden bei Untersuchung der aus Stall I entnommenen Milchproben gefunden:

In Versuch VI in 1:100 ccm um 8 Uhr morgens 6, um 11 Uhr 5 und um 2 Uhr 11 Keime, bis 5 Uhr fand keine Vermehrung statt; auch in Versuch VII wurde dieser Organismus konstatiert, im VIII. Versuch um 8 Uhr morgens und 11 Uhr in 1:10 ccm 10 und 9, um 2 und 5 Uhr in 1:100 ccm 4 und 7 Kolonieen, in Versuch XVIII am 1. Tag 7 Uhr morgens 14, um 1 Uhr 7, um 7 Uhr abends 3,5 Proz.; am 2. Tage 7 Uhr morgens 0,5 Proz., um $11^1/_2$ Uhr trat er nicht mehr auf, in Versuch XIX war er nur um $6^1/_2$ Uhr morgens, auf Gel. zu 18 Proz., auf Ag. zu 15 Proz. vertreten und in Versuch XX ebenfalls nur um $6^1/_2$ Uhr morgens zu 3 Proz.

In den aus Stall II stammenden Milchproben trat er auf: In Versuch XV um 8 Uhr morgens auf Gel. zu 3 Proz., auf Ag. zu 4 Proz., dann nur noch um 1 Uhr (Gel. 1 Proz., Ag. 1 Proz.), im XVI. Versuch ausschließlich um 7 Uhr morgens (Gel. 5 Proz., Ag. 4,5 Proz.) und in Versuch XVII um $6^1/_2$ Uhr morgens zu 17 Proz. auf Gel., zu 10 Proz. auf Ag., um $10^1/_2$ Uhr zu 6, resp. 14 Proz., um $2^1/_2$ Uhr war auf einer der Gelatineplatten unter 75 Kolonieen eine, auf den entsprechenden Agarplatten keine Kolonie dieser Art mehr zu finden.

In Versuch VIII (Stall I) trat noch ein anderer nicht farbstoffbildender Actinomyces auf, der harte Kolonieen bildete und Gelatine nicht verflüssigte, er ließ öfters echte Verzweigung beobachten.

Vereinzelt wurde auch Actinomyces albus gefunden, der äußerst feste Kolonieen von strahligem Bau bildet und auf allen Nährböden, besonders auf Kartoffel, einen intensiven Modergeruch erzeugt. Auch dieser Organismus griff, wie der zuvor beschriebene farbstoffbildende, augenscheinlich das Milchfett an. Nach Gasperini zeigen die Kolonieen manchmal plötzlich Pigmentbildung wie Actin. chromogenes; Lehmann und Neumann aber sehen diese Formen als eine Varietät von letztgenannter an. Ich fand auf Molkengelatineplatten Kolonieen, die den Nährboden nicht verfärbten, eine dagegen bildete deutlich in ihrer Umgebung ein rotbraunes Pigment, diese wurde fallen gelassen, von den anderen aber Stiche in Molkengelatine gemacht und in diesem Falle trat nach einer Woche Farbstoffbildung auf. Nach Rossi-

Doria wächst Actinomyces albus auf Fucus-Nährböden mit dunkler Verfärbung des Substrates. Neukirch sagt, daß Actinomyces albus zuweilen, besonders in alten Kulturen, Agar und Gelatine dunkelgelb bis braun verfärbt.

Erwähnt sei zum Schluß noch ein anderer eigentümlicher Organismus. Im XVII. Versuche traten um $2^1/_2$ Uhr auf allen 6 Plattenkulturen (2 Ag., 2 Gel. und 2 Ag. quantitativ) in 2 resp. 3 Exemplaren im Bau Bac. mycoides-ähnliche, jedoch fast geradstrahlige Kolonieen auf, die den ganzen Nährboden durchwucherten und die Gelatine erweichten. Sie enthielten Proteus-ähnliche Organismen, lange septierte und unseptierte Fäden und kurze Stücke, 3—4 × 1 μ groß, die aber nur hin und wieder Bewegung erkennen ließen.

C. Zusammenfassender Ueberblick.

Die Bakterienflora der einzelnen Milchproben zeigte naturgemäß bei der Untersuchung unmittelbar nach dem Melken kein einheitliches Gepräge, doch nahmen die Kokken durchweg einen großen Prozentsatz ein. Dies dürfte bei frischen Milchproben, wie auch aus andererorts gemachten Erfahrungen hervorgeht, überhaupt der Fall sein, wenn nicht besondere Infektionsquellen, wie z. B. durch beständig in Benutzung befindliche Kühler, gebildet werden, welche das Verhältnis zu Gunsten anderer Arten, speziell der Milchsäurebakterien, verschieben.

Den Kokken an Zahl ebenbürtig war bei unseren Untersuchungen die Gruppe der alkalibildenden Kurzstäbchen, die sich bei eingehender Forschung ebenfalls als regelmäßige Milchbewohner erweisen dürften. Andere nicht verflüssigende Kurzstäbchen traten in wesentlicher Zahl nicht auf, dagegen waren die verflüssigenden häufiger zu finden. Gasbildende Bakterien aus der Coli-Aërogenes-Gruppe waren infolge der reinlichen Gewinnung der Milch nur spärlich vertreten. Wenn sie aber vorhanden sind, so scheinen sie sich bei allen Temperaturen zwischen 5° und 37° zu vermehren, und zwar bei den höheren entschieden schneller als bei den niederen.

Die Sporenbildner, der Hauptsache nach Vertreter aus der Gruppe der Heu- und Kartoffelbacillen, wurden stets nur in geringer Zahl gefunden. Weder die Sporen, noch die vegetativen Keime, soweit solche überhaupt vorhanden sind, scheinen sich bei Temperaturen unter 37° C in der frischen Milch vermehren zu können. Noch spärlicher als die luftliebenden Sporenbildner waren in unseren Versuchen die obligat anaëroben Sporenbildner nachzuweisen. In der Regel gelang dies nur bei Aussaat von 1 ccm, nur einmal bei Aussaat von 0,1 ccm der Milchprobe. Aehnliches gilt von den fakultativ anaëroben Sporenbildnern.

Die zu verschiedenen Zeiten bei ein und derselben Milchprobe vorgenommenen Untersuchungen lassen erkennen, daß die in die frische Milch gelangten Sporen bei den üblichen Aufbewahrungstemperaturen nicht auskeimen, sondern im Zustande der Dauerzellen verharren, wenigstens so lange, bis die Milchsäurebakterien überhand genommen haben.

In der zwecks Verfolgung der Sporenbildner auf 70—80° C erhitzten Milch traten auch nicht-sporenbildende Bakterien, so die interessante Gruppe der „resistenten Kurzstäbchen“ auf, allerdings in so geringer Zahl, daß sie sich in den für Verfolgung der Gesamtbakterien

in der rohen Milch gebräuchlichen Kulturen im allgemeinen nicht erkennen ließen.

In so erhitzter, bezw. in pasteurisierter Milch konnten auch lebende Güntheri-Keime nachgewiesen werden, doch nur dann, wenn zur Zeit der Erhitzung schon eine gewisse Säurebildung, wenigstens in einzelnen Punkten, stattgefunden hatte. Zufolge der zunächst auf einzelne Koagulationszentren beschränkten Gerinnung werden die diese verursachenden Keime in eine schützende Hülle eingeschlossen und entgehen nicht nur selbst der Abtötung durch die mäßige Erhitzung, sondern können auch benachbarten Keimen anderer Art zu einem entsprechenden Schutz verhelfen. Aus dieser Tatsache entspringt die Forderung, eine Pasteurisierung der Milch, wenn sie überhaupt geboten erscheint, möglichst bald nach dem Melken vornehmen zu lassen.

In der Entwickelung bei verschiedenen Temperaturen verhalten sich die Arten in großen Zügen folgendermaßen. Vorausgeschickt sei, daß man schon bei oberflächlicher Betrachtung erkennen konnte, wie die anfangs durchaus verschiedenartige Bakterienflora mit fortschreitender Zeit sich immer mehr vereinfachte, bis endlich, am Schlusse des Versuches, eine resp. einige wenige Arten in auffallender Weise das Uebergewicht hatten.

Bei 5—7° C, speziell in Milch aus Stall I, vermehrten sich alle Bakterien nach einer vorausgegangenen 3-tägigen Verzögerung, resp. nach einem Zurückgehen der Keimzahl, nur langsam, in erster Linie die Kokken und alkalibildenden Kurzstäbchen, während andere nicht verflüssigende Kurzstäbchen sich nur anfangs zeigten, dann aber verschwanden, um nur noch einmal, in der Mitte des Versuches, aufzutauchen. Die verflüssigenden Kurzstäbchen erfuhren einzig und allein bei dieser Temperatur eine wesentliche Vermehrung. Am 9. Tage trat Bakt. fluorescens auf und vermehrte sich so stark, daß es am letzten Tage des Versuches nahezu die Hälfte der Gesamtbakterienflora, die bei dieser Temperatur auch am Schlusse eine mannigfaltige blieb, ausmachte. Infolgedessen konnten die Milchsäurebakterien, die sich allmählich zu einer fast gleich hohen Prozentzahl emporgerungen hatten, ihre spezifische Wirkung, d. h. die Koagulation der Milch, nicht

Uebersichtstabelle I.

Milchproben aus Stall I, bei 30° C aufbewahrt.

Versuch	Kultur	8 Uhr morgens				11 Uhr				2 Uhr				5 Uhr			
		K.	M.	Kst.	Gesamtkeimzahl	K.	M.	Kst.	Gesamtkeimzahl	K.	M.	Kst.	Gesamtkeimzahl	K.	M.	Kst.	Gesamtkeimzahl
I	Gel.	60	15	25	(40 000)	50	15	35	(41 000)	25	40	35	(195 000)	5	80	15	(9 330 000)
	Ag.	40	10	50	(60 000)				(85 000)				(109 000)				(7 182 000)
II	Gel.	60	10	30	(220 000)	30	20	50	(250 000)	5	70	25	(5 800 000)	3	77	20	(15 800 000)
	Ag.	75	15	10	(268 000)	55	25	20	(234 000)	10	50	40	(3 000 000)				(12 200 000)
III	Gel.	20	50	30	(570 000)	10	80	10	(1 600 000)	15	70	15	(9 000 000)	2	96,8	1,2	(88 000 000)
	Ag.	25	55	25	(450 000)	10	75	15	(2 000 000)	10	75	15	(22 000 000)	1	98	1	(72 000 000)
IV	Gel.	33	4	63	(167 000)	40	5	55	(177 000)	15	14	71	(1 600 000)	1,5	13,5	85	(20 000 000)
	Ag.	50	10	40	(148 000)	50	8	42	(149 000)	12	10	78	(1 500 000)	1	5	94	(16 000 000)
V	Gel.	52	5	43	(198 000)	55	5	45	(205 000)	10	40	50	(2 600 000)	8	70	22	(12 000 000)
	Ag.	60	1	39	(125 000)	55	5	38	(150 000)	20	25	55	(2 030 000)	15	45	40	(20 000 000)
VI	Gel.	35	10	55	(397 000)	35	15	50	(400 000)	4	45	51	(3 600 000)	1,5	65	33,5	(13 000 000)

Uebersichtstabelle II.

II. Milchproben aus Stall I, bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt.

Versuch	Temp.	Kultur	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.
XII	5—7°		1. Tag 8 Uhr morg.	1. Tag 8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morg.	2. Tag 8 Uhr abends	3. Tag 8 Uhr morgens	3. Tag 8 Uhr abends
		Gel.	60. 5. 20. 10. 5	60. 8. 22. 10. 0	44. 16. 30. 10. 0	47. 10. 43. 0. 0	47. 5. 43. 5. 0	30. 13. 51. 6. 0
		Ag.	70. 3. 15. 10. 2	75. 15. 8. 0. 2	80. 15. 5. 0. 0	85. 9,6. 5,4. 0. 0	79. 5. 10. 6. 0	69. 13,5. 15. 2,5. 0
			4. Tag 8 Uhr morg.	5. Tag 8 Uhr morg.	7. Tag 8 Uhr morg.	9. Tag 8 Uhr morg.	11. Tag 8 Uhr morgens	14. Tag 8 Uhr morg. durch Fl verfl.
		Gel.	22. 6. 69. 3. 0	32. 9. 51. 2. 6	26. 24. 50. 0. 0	40. 15. 40. 5Fl 0	10. 20. 33. 35Fl 0	
		Ag.	44. 7. 43. 7. 0	21. 9. 55. 2. 13	16. 28. 56. 0. 0	40. 10. 39. 4Fl 0	15. 20. 35. 30Fl 0	4. 41. 8 42Fl 0
XVIII	20°		1. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 7 Uhr morgens	$11^1/_2$ Uhr	
		Gel.	— — — — — (122 000)	0. 36,5. 35. 18. 3,5 (315 000)	0. 45. 48. 3,5. 0 (5 700 000)	0. 90. 9. 0,5 0 (567 Mill.)	0. 96,3. 3. 7. 0 (1 260 000)	
		Ag.	30. 14. 20. 14. 8	0. 69. 31. 0. 0	4. 50. 46. 0. 0	1. 91. 8. 0. 0	0. 97,2. 2. 2,8. 0	
XIX	30°		$6^1/_2$ Uhr morgens	1 Uhr	$2^1/_2$ Uhr	$6^1/_2$ Uhr abends		
		Gel.	20. 12. 32. 0. 7 (42 000)	6. 68. 10. 12. 0 (252 000)	0. 84. 13. 0. 0 (480 000)	0. 97. 1. 0. 0 (180 Mill.)		
		Ag.	15. 40. 30. 0. 0	6. 80. 10. 4. 0	6. 76. 18. 0. 0	0. 86. 8. 0. 0		
XX	37°		7 Uhr morgens	$10^1/_2$ Uhr	$2^1/_2$ Uhr	$6^1/_2$ Uhr abends		
		Gel.	— — — — — (78 000)	— — — — — (84 000)	— — — — — (1 500 000)	— — — — — (58 Mill.)		
		Ag.	48. 27. 16. 3. 3	35. 40. 12. 3. 0	32. 55. 13. 0. 0	12. 76. 3. 0. 0		

Uebersichtstabelle III.

III. Milchproben aus Stall II, bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt.

Versuch	Temperatur	Kultur	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.	K. M. Al. fl. nfl.
XIII	5—7°		1. Tag 8 Uhr morgens	2. Tag 8 Uhr morgens	3. Tag 8 Uhr morgens	5. Tag 8 Uhr morgens	7. Tag 8 Uhr morgens
		Gel.	15. 20. 35. 30. 0	12. 22. 11. 33. 0	17. 34. 16. 8. 0	verflüssigt	durch Fluoreszens
		Ag.	10. 24. 24. 36. 6	20. 37. 13. 30. 0	25. 25. 15. 10. 0	50. 0. 8. 0. 0	45. 18. 0. 0. 0
			(6000)	(6000)	(4000)	(28 000)	(41 000)
XIV	20°		1. Tag 8 Uhr morgens	2 Uhr	8 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	
		Gel.	18. 60. 10. 5. 0	5. 86,5. 6. 2. 0	4. 65. 26. 5. 0	0,5. 95. 3,5. 0. 0	
		Ag.	24. 66. 4. 2. 0	4. 89. 5. 0. 0	6. 68. 25. 0. 0	2. 88. 9. 0. 0	
			(800 000)	(5 040 000)	(18 Mill.)	(378 Mill.)	
XV	20°		1. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr	7 Uhr abends	2. Tag 8 Uhr morgens	1 Uhr
		Gel.	30. 43. 10. 8. 6	36. 60. 2. 1. 0	24. 68. 8. 0. 0	30. 60. 10. 0. 0	5. 91,5. 3,5. 0. 0
		Ag.	35. 40. 11. 10. 10	43. 50. 4. 2. 1	21. 73. 6. 0. 0	30. 60. 10. 0. 0	4. 91. 5. 0. 0
			(270 000)	(1 020 000)	(22 050 000)	(189 Mill.)	(160 Mill.)
XIV	30°		7 Uhr morgens	11½ Uhr	3½ Uhr	7 Uhr abends	
		Gel.	5,7. 73,3. 10. 0. 0	3,3. 95. 1,7. 0. 0	8,5. 90,5. 1. 0. 0	0. 99. 1. 0. 0	
		Ag.	13,5. 73. 6,5. 0. 2,5	0,9. 97,5. 1,6. 0. 0	7. 92. 1. 0. 0	0. 99,5. 0,5. 0. 0	
			(980 000)	(28 970 000)	(205 Mill.)	(380 Mill.)	
XVII	37°		6½ Uhr morgens	10½ Uhr	2½ Uhr	6 Uhr abends	
		Gel.	35. 7. 35. 0. 6	57. 22. 13. 0. 0	59. 33. 6. 0. 0	8. 57. 0. 0. 0	
		Ag.	33. 17. 30. 0. 10	46,3. 30,7. 9. 0. 0	65. 29. 4,5. 0. 0	8. 66. 0. 0. 0	
			(204 000)	(2 275 000)	(28 Mill.)	(200 Mill.)	

zur Geltung bringen. Die entsprechende Probe aus Stall II war reicher an Milchsäurebakterien, aber auch in diesem Falle konnten diese nicht die Oberhand gewinnen, auch im übrigen zeigten die Bakterien dieser Milchprobe ein dem vorhin angegebenen sehr ähnliches Verhalten.

Bei 20° C vermehrten sich ebenfalls alle Arten, nur schneller als bei 5° C, besonders die Milchsäurebakterien, die schließlich über 90 Proz. der Flora ausmachten und die Milch zur vollständigen Gerinnung brachten.

Bei 30° C drängten sich die Milchsäurebakterien noch schneller in den Vordergrund, und am Schlusse, vor der Gerinnung, waren nur noch die Alkalibildner in wenigen Prozenten neben ihnen zu finden.

Bei 37° C entwickelten sich die Milchsäurebakterien wohl ebenso schnell, doch traten hier am Schlusse, infolge der sie begünstigenden Temperatur, auch die gasbildenden Coli und Aërogenes in nicht unbedeutender Zahl auf; diese dürfte wohl noch größer geworden sein, wenn die genannten Organismen nicht an und für sich so spärlich vertreten gewesen wären.

Was die Wirkungen der einzelnen Gruppen in der Milch anbelangt, so kommt den Milchsäurebakterien die größte Bedeutung zu. Sie bringen vermöge ihrer Säureproduktion nicht nur die Milch zur Gerinnung, sondern hemmen auch die Entwickelung anderer Bakterien. Bact. Güntheri überflügelt seinerseits die ebenfalls säurebildenden Streptokokken und von diesen beiden werden die Kokken, besonders die nicht verflüssigenden, wie auch die nicht verflüssigenden Kurzstäbchen, mit Ausnahme der alkalibildenden, zurückgedrängt.

Von den Kokken sind die nicht verflüssigenden wohl als indifferent zu betrachten, die verflüssigenden dagegen als die im physiologischen Sinne gewissermaßen stärkeren Organismen, können unter geeigneten Bedingungen Milch in schädigender Weise beeinflussen. Es sei hier an den erwähnten Coccus No. 48 und an Microc. Freudenreichii erinnert, welche in diese Gruppe gehören.

Die Alkalibildner, die, wie wir vorhin gesehen haben, vielleicht gerade dieser ihrer spezifischen Eigentümlichkeit wegen, sich unbehindert neben den Milchsäurebakterien entwickeln können, erschienen uns anfangs indifferent, erwiesen sich aber bei näherer Prüfung als nicht gerade harmlos, indem gewisse ihrer Vertreter unangenehme Riechstoffe zu erzeugen vermögen und demzufolge unter geeigneten Bedingungen im stande sein werden, Milchfehler hervorzurufen. Dieses wird namentlich dann der Fall sein, wenn sie, durch besondere Umstände begünstigt, im Konkurrenzkampf mit den Milchsäurebakterien Sieger bleiben. Auch die verflüssigenden Kurzstäbchen, wie die verflüssigenden Organismen überhaupt, sind nicht ohne weiteres als harmlos zu betrachten, dafür spricht jene Art, die dem von R. Burri und M. Düggeli (1) beschriebenen, in der Milch einen bitteren Geschmack erzeugenden Organismus sehr nahe steht.

Ein Vergleich unserer Befunde mit jenen, die bei ähnlicher Arbeitsweise von Conn und Esten (1 und 2) in den Vereinigten Staaten gemacht wurden, ergibt eine ziemliche Uebereinstimmung. Nur bezüglich der Streptokokken scheinen die Verhältnisse verschieden gelegen. Die genannten Autoren fanden in den frischen Milchproben am reichlichsten vertreten und für alle Proben charakteristisch einen Strepto-

coccus, der sich im Anfang stark vermehrte, später aber infolge Unterdrückung durch die Milchsäurebakterien ganz verschwand. Auffallender Weise soll dieser Streptococcus selbst, soviel aus dessen Beschreibung zu entnehmen ist, kein Säurebildner sein.

Bei 10° C, welche Temperatur bei unseren Versuchen nicht berücksichtigt wurde, dauerte die Wachstumsverzögerung der Milchbakterien nach Conn und Esten 2—3 Tage. Die Milchsäurebakterien entwickelten sich dabei manchmal außerordentlich reichlich, manchmal ganz unbedeutend. Bei dieser niedrigen Temperatur wurde also das Wachstum der anderen Bakterienarten nicht mit Regelmäßigkeit gehemmt. Einen Unterschied zwischen der Wirkung bei 10° C und derjenigen bei 1° C wurde nicht konstatiert, abgesehen von der Wachstumsgeschwindigkeit. Die Temperatur von 1° C hemmte das Wachstum der Bakterien im allgemeinen merklich, jedoch schienen sich einige wenige Arten besonders gut dieser niedrigen Temperatur anpassen zu können, und traten gegen Ende des Versuches reichlich auf.

Zum Schlusse seien die in den Einzelabschnitten der vorliegenden Arbeit enthaltenen Befunde in Tabellenform übersichtlich zusammengestellt.

Es bedeutet in der Uebersichtstabelle I:

K. Kokken
M. Milchsäurebakterien und Streptokokken
Kst. Kurzstäbchen

Die Zahlen sind Prozentzahlen, die daneben befindliche eingeklammerte Zahl bedeutet die Gesamtkeimzahl, auf 1 ccm Milch bezogen.

In der Uebersichtstabelle II und III bedeutet:

K. Kokken
M. Milchsäurebakterien und Streptokokken
Al. Alkalibildner
fl. verflüssigende Kurzstäbchen
nfl. nicht verflüssigende Kurzstäbchen

Die spärlich aufgetretenen Typen, wie Sporenbildner, Gasbildner der Coli-Gruppe, Aktinomyces etc. sind in diesen Tabellen nicht enthalten.

(Siehe Tabellen I, II und III p. 774, 775 und 776.)

Litteratur.

Ali-Cohen (1): Eigenbewegung bei Mikrokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VI. p. 33.)

Backhaus u. Appel (1): Berichte d. landw. Institutes der Universität Königsberg i. Pr. Bd. V. p. 73.

Barthel, Chr. (1): Recherches sur les microorganismes de l'air des étables, du lait au moment de la traite et de la mamelle. (Revue générale du lait. Bd. I. p. 531.)

Burr, Rollin H. (1): The source of the acid organisms of milk and cream. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 236.)

Burri, R. (1): Zur Isolierung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 533.)

—, (2): Intramolekulare Atmung, Anaërobiose und Mikroärophilie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 804.)

—, (3): Ueber einige zum Zwecke der Artcharakterisierung anzuwendende bakteriologische Untersuchungsmethoden nebst Beschreibung von zwei neuen aus Rheinwasser isolierten Bakterien. (Archiv f. Hyg. Bd. XIX. 1893. p. 1.)

Burri, R. u. Düggeli, M. (1): Bakteriologischer Befund bei einigen Milchproben von abnormaler Beschaffenheit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 709.)

Conn, H. W. u. Esten, W. M. (1): Le développement comparatif des différentes espèces microbiennes dans le lait. (Revue générale du lait. T. I. 1901—02. p. 121. — de l'Université Wesleyenne Middletown. Ct.)

— —, (2): The effect of different temperatures in determining the species of bacteria

which grow in milk. (Report of the Storrs Agricultural Experim. Station. Storrs. Conn. 1904.)
Conn, H. W. (1): Classification of dairy bacteria. (Report of the Storrs agric. exp. Station for 1899.)
Düggeli, M. (1): Die bakteriologische Charakterisierung der verschiedenen Typen der Milchgärprobe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 37.)
Ellis, D. (1): Der Nachweis der Geißeln bei allen Coccaceen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 546.)
Engler, A. (1): Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin 1904.
Ferguon, M. (1): Wie vollzieht sich die spontane Zersetzung der Milch bei 40 bis 44° C, besonders bei 42°, und welche Organismen sind dabei beteiligt? (Inaug.-Diss. Göttingen 1901. Ref. Kochs Jahresbericht. 13. Jhrber. 1902. p. 350.)
Flügge, C. (1): Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisation gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XVII. 1894. p. 272.)
v. Freudenreich u. Thöni (1): Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehung zu dem Käsereifungsprozeß. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 305 und 340.)
Freudenreich, Ed. v. (2): Milchsäureferment und Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 674.)
—, (3): Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 401.)
—, (4): Ueber die Bakterien im Kuheuter und ihre Verteilung in den verschiedenen Partieen des Melkens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 281 und 407.)
Fokker, A. P. (1): Zeitschr. f. Hygiene. Bd. IX. 1890. p. 43.)
Globig (1): Ueber einen Kartoffelbacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. III. p. 322.)
Grassburger u. Schattenfroh (1): Archiv f. Hygiene. Bd. XXXVII. p. 54 und Bd. XLII. p. 219.)
Gruber, Th. (1): Beiträge zur Identifizierung des Bacillus mesentericus ruber. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 644.)
Harrison, F. C. (1): A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 472.)
Hashimoto, S. (1): Zwei neue milchsäurebildende Kugelbakterien. (Hyg. Rundschau. Bd. XI. 1901. p. 521.)
Heim, L. (1): Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. V. p. 530.
Hesse, W. (1): Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIV. 1900. p. 346.)
Hippius, A. (1): Biologisches zur Milchpasteurisierung. (Jahrbuch f. Kinderheilkunde. 3. F. Bd. XI. Heft 2. p. 365.)
Hunziker, Otto F. (1): Investigation converning the germicidal action in cows milk. (Cornell Univ. Agric. Exper. Stat. Bull. No. 197.)
Jensen, Orla (1): Studien über das Ranzigwerden der Butter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 11.)
Koning (1): Biologische und biochemische Studien über Milch. (Milchwirtschaftliches Centralbl. 1905. Heft 2, 3, 5, 7 u. 8; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 424; Bd. XV. p. 68 und 476.)
Krüger, R. (1): Bakteriologisch-chemische Untersuchung käsiger Butter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VII. 1890. p. 465.)
Kürsteiner, J. (1): Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1907.)
Lachner-Sandoval (1): Ueber Strahlenpilze (eine bakteriologisch-botanische Untersuchung). Diss. der medizinischen Fakultät Straßburg 1898.
Lehmann u. Neumann (1): Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1904.
Leichmann u. v. Bazarewski (1): Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 331.)
Löffler, F. (1): Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VI. 1889. p. 209.)
—, (2): Weitere Untersuchungen über die Beizung und Färbung der Geißeln bei den Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VII. 1890. p. 625.)
Lux, A. (1): Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 195 und 267.)
Maurea, G. (1): Ueber eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XI. 1892. p. 228.)
Mendoza (1): Zur Eigenbewegung der Mikrokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. VI. 1889. p. 566.)

Müller, Leo (1): Vergleichende Untersuchungen über Milchsäurebakterien (des Typus Güntheri) verschiedener Herkunft, nebst Beitrag zur Frage der Stellung dieser Organismen zu den typischen Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1907. p. 468.)
Neukirch, H. (1): Ueber Aktinomyceten. Diss. der mathem. und naturwissenschaftl. Fakultät. Straßburg 1902.
Petruschky (1): In Kolle und Wassermanns Handb. der path. Mikrogr. Bd. II. 1903.
Rodella, A. (1): Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaërobien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozeß. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 504.)
Rullmann, W. u. Trommsdorff, R. (1): Milchhygienische Untersuchungen. (Archiv f. Hygiene. Bd. LIX. p. 224.)
Rullmann, W. (1): Ueber Pasteurisieren und Sterilisieren der Milch im allgemeinen und über das Gerbersche Verfahren und Pasteurisieren mit dem Bergedorf Regenerativ-Erhitzer im besonderen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 658.)
Russell, H. L. u. Hastings, E. G. (1): A micrococcus the thermal death limit of which is 76° C. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 339.)
— —, (2): On the increased resistance of bacteria in milk pasteurized in contact with air. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 462.)
— —, (3): Thermal death point of the tubercle bacillus and its relation to the pasteurisation of milk. (Journ. of the Boston. Soc. of med. Si. Vol. V. p. 346. Ref. Kochs Jahresbericht 1901. p. 351.)
Russell, N. L. (1): A biological study of pasteurized milk and cream under commercial conditions. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 741.)
Sames, Th. (1): Eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 664.)
Schweitzer, G. (1): Milchhygienische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 501.)
Severin u. Budinoff (1): Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 463.)
Smith, Th. (1): The thermal death point of tubercle bacilli in milk and some other fluids. (The Journ. of exp. med. Vol. IV. 1899. p. 217.)
Steiger, P. (1): Bakterienbefund bei der Euterentzündung der Kuh und Ziege. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1903. p. 326.)
Sterling, S. (1): Die peptonisierenden Bakterien der Kuhmilch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 473.)
Storch, V. (1): 18. Bericht. d. Labor. f. landw. Versuche an der Kgl. Veterinär- und Landbauhochschule Koppenhagen. 1890.)
Swellengrebel, N. (1): Ueber pasteurisierte Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 440.)
Troili-Petterssou, Gerda (1): Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 207.)
Weigmann, H. (1): In Lafars Handbuch d. techn. Mykologie. 9. Lief. 1905.
—, (2): Ueber zwei an der Käsereifung beteiligten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 820.)

Vorliegende Arbeit wurde im landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidgenössischen Polytechnikums zu Zürich angefertigt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Burri, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung diese Arbeit entstand, spreche ich für das meinen Studien entgegengebrachte Interesse und Wohlwollen auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

Ueber stickstofffixierende Bakterien. III.

Zugleich IV. Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und Dr. **N. K. Pillai** M. A. B. Sc.

Der Hauptzweck der hier kurz zu besprechenden Untersuchungen bestand darin, im Anschluß an die von H. Fischer, H. Christensen, S. und H. Krzemieniewski u. A. ausgeführten Arbeiten zu prüfen, inwiefern sich die Intensität der durch frei im Boden lebende Organismen bewirkten Stickstofffixierung abhängig erwies von der Düngung, bezw. von dem Mineralstoffgehalt eines Bodens. Außerdem war der Einfluß der Jahreszeit und die Wirkung der Brache erneut ins Auge zu fassen. Die beteiligten Organismen sollten isoliert und ihre Befähigung zur Stickstoffbindung quantitativ ermittelt werden. Herr Pillai hat in seiner Inauguraldissertation [1]) ausführlich über die Untersuchungen, die er auf meine Veranlassung hin durchführte, Bericht erstattet. Als Fortsetzung meiner früher in diesem Blatte (Bd. XII, XIV, XVII, XIX) erschienenen Veröffentlichungen über die hier in Betracht kommenden Fragen seien nachstehend die wichtigsten Ergebnisse jener Untersuchungen kurz referiert. Diese erstrecken sich, wie gesagt, einerseits auf die Ermittelung von Art und Wirksamkeit der stickstofffixierenden Bodenorganismen; hierbei wird unter anderem über die Azotobacter-Isolierung sowie über Bacillus molestus Thiele einiges zu sagen sein. Andererseits handelt es sich um die bei dem gegenwärtigen Stande der Bodenbakteriologie besonders wichtige, weitere Ausgestaltung und Sicherstellung der Methodik. Dabei dürften namentlich auch ein paar Worte am Platze sein über eine methodologische Arbeit, die Dr. Rahn auf Veranlassung und unter der Leitung von Dr. Heinze im bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation Halle kürzlich ausgeführt hat, und in der nicht viel weniger erwiesen werden sollte, als daß alle Anhäufungs- und Umsetzungsversuche so ziemlich wertlos seien, da durch sie hinsichtlich des biologischen Charakters einer Erde kein Anhalt gewonnen werde, weder quantitativer noch auch qualitativer Art.

I. Mit Erde ausgeführte Umsetzungsversuche.

In erster Linie prüften wir eine größere Zahl von Kohlenstoffverbindungen in bezug auf ihre Brauchbarkeit zu Stickstoffassimilationsversuchen. Je 1 g Substanz wurde in 100 ccm Bodenextrakt [2]) + 0,5 Prom. K_2HPO_4 gelöst; zur Impfung der sterilisierten Lösung dienten 10 Proz. Erde, die einem, weiterhin als Parzelle XVI bezeichneten, Teilstück unseres Versuchsfeldes Oberholz im Oktober 1906 ent-

1) Pillai, Untersuchungen über den Einfluß der Düngung und anderer Faktoren auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. Diss. Leipzig 1908.

2) Betr. Herstellung des Bodenextraktes vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. p. 88.

nommen wurde. Die eine Reihe der Parallelkolben (450 ccm Erlenmeyer-Kolben) enthielt einen Zusatz von 1—2 Prom. $CaCO_3$. Nach Verlauf von 10 Tagen[1]) wurden folgende Stickstoffmengen[2]) (mg pro 100 ccm + 10 g Erde) ermittelt:

Tabelle I.

Substanz	N zu Beginn	Nach 10 Tagen		N-Gewinn		Substanz	N zu Beginn	Nach 10 Tagen		N-Gewinn	
		mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$	mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$			mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$	mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$
Mannit	12,44	21,84	22,40	9,40	9,96	Stärke	13,30	16,66	16,80	3,36	3,50
Xylose	12,58	22,12	21,98	9,54	9,40	Natriumtartrat	12,44	17,50	15,26	5,06	2,82
Milchzucker	12,72	21,84	21,60	9,12	8,88	Glycerin	12,58	17,36	14,26	4,78	1,68
Laevulose	12,76	21,28	21,56	8,52	8,80	Natriumsuccinat	12,44	15,40	15,26	2,96	2,82
Inulin	12,72	20,44	20,30	7,72	7,58	Calciumlactat	12,62	15,11	14,84	2,49	2,22
Galaktose	12,58	20,44	20,02	7,86	7,44	Natriumcitrat	12,44	13,86	13,44	1,42	1,00
Maltose	12,72	20,16	20,58	7,44	7,86	Natriumpropionat	12,48	13,58	13,44	1,10	0,96
Arabinose	12,54	20,16	19,88	7,62	7,34	Kaliumoxalat	12,62	12,74	12,88	0,12	0,26
Dextrin	12,72	19,90	20,30	7,18	7,58	Calciumbutyrat	12,44	12,46	12,60	0,02	0,16
Rohrzucker	12,58	21,28	18,48	8,60	5,90	Humus	45,38	44,42	44,28	–0,96	–1,10
Traubenzucker	12,58	17,20	16,94	4,62	4,36						

Mannit, Xylose, Milchzucker, Lävulose, Inulin, Galaktose, Maltose, Arabinose und Dextrin ließen stets eine üppige Azotobacter-Vegetation entstehen, die $CaCO_3$-Zugabe blieb in diesen Fällen so gut wie ohne Wirkung. In dem mit Kreide beschickten Rohrzuckerkolben kam gleichfalls Azotobacter zu lebhafter Entwickelung, während nur starke Trübung und Gasbildung dann wahrzunehmen war, wenn der $CaCO_3$-Zusatz unterblieb. Traubenzucker und Stärke riefen in beiden Kolben intensive Buttersäuregärung hervor. Natriumtartrat und Glycerin lieferten bei Gegenwart von Kreide eine schwache Azotobacter-Vegetation. Daß im übrigen sowohl Glycerin wie die verschiedenen organischen Salze sich für die Ernährung der stickstoffixierenden Bodenorganismen nur sehr wenig geeignet erwiesen, steht in gewissem Widerspruch zu Beijerincks Befunden. Doch ist zu bedenken, daß bei derartigen Anhäufungsversuchen sowohl die Beschaffenheit der verwendeten Erde wie auch namentlich der Einfluß der Jahreszeit mitunter zu erheblichen Differenzen Veranlassung geben kann, wie sich dies aufs deutlichste bei den mit Mannitlösung durchgeführten Versuchen gezeigt hat. Humus erwies sich als völlig ungeeignet; in den betreffenden Kolben fand eine geringe Stickstoffentbindung statt. Das verwendete Präparat, Humussäure von Merck, war mit Kalilauge neutralisiert worden. Heinze[3]) berichtet, eine üppige Azotobacter-Entwickelung erhalten zu haben, wenn die

1) Diese relativ kurze Versuchsdauer wurde in diesem Falle im Anschluß an Krzemieniewski (Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie. 1906. p. 565) gewählt. Bei den weiteren Versuchen, in denen die Azotobacter-Entwickelung meist nicht so lebhaft war, wie hier, schien indessen doch wieder eine Verlängerung (auf 15 Tage bei den mit Erde, auf 21 Tage bei den mit Reinkulturen durchgeführten Umsetzungsversuchen) rätlich.

2) Bei der Stickstoffbestimmung verfuhren wir in der Weise, daß die Lösung mit der Erde im Versuchskolben nach Zusatz von Schwefelsäure eingedampft und nach Kjeldahl verbrannt wurde. Es entziehen sich zwar hierbei geringe Salpetermengen der Analyse, aber diese Quantitäten sind stets so klein, daß der entstehende Fehler ohne jede Bedeutung ist.

3) Heinze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 61.

benutzte Lösung neben 1-proz. Huminsäure, etwas $CaCO_3$ und geringe Dextrosemengen enthielt. Auch an anderen Stellen[1]) spricht er, ohne sich auf präzise Angaben einzulassen, von der günstigen Wirkung der Humusstoffe. Aus Mitteilungen Berthelots[2]) geht hervor, daß von verschiedenen Humuspräparaten ungleiche Wirkung zu erwarten ist. Natürlicher Humus gab ihm sehr ansehnlichen Stickstoffgewinn, während das aus Zucker hergestellte Material fast ohne Wirkung blieb. Auch Warmbold[3]) fand künstlichen Humus (aus Zucker) ungeeignet[4]).

Auf Grund dieser Feststellungen verwendeten wir für unsere Umsetzungsversuche 1-proz. Mannit- und 1-proz. Rohrzucker-Bodenextrakt, um sowohl für die Entwickelung des Azotobacter und dessen Begleiter, wie auch für die stark gasbildenden Stickstoffassimilanten eine zusagende Lösung zu haben. Die Kolben erhielten zum Teil auch K_2HPO_4 (0,5 Prom.) und $CaCO_3$ (1,5 Prom.), zum Teil unterblieb dieser Zusatz; es wird sogleich hierüber näher zu sprechen sein. Die Versuchsdauer wurde auf 15 Tage bemessen. Geimpft wurde mit 10 Proz. Erde, die verschiedenen Parzellen des Versuchsfeldes Oberholz (aus 10 cm Tiefe) entstammte. Parzelle I—XI gehört dem sogenannten statischen Versuche an, jedes Teilstück wird alljährlich in gleichbleibender Weise nach folgendem Plane gedüngt:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Stalldünger	—	—	10 000	10 000	—	—	—	—	—	—	—
Chilesalpeter	—	—	—	—	330	—	330	330	—	330	—
Ammonsulfat	—	—	—	—	—	—	—	—	250	—	—
Superphosphat	—	—	—	—	—	—	—	200	200	200	—
40-proz. Kalisalz	—	—	—	—	—	—	160	160	160	—	—
Kalk	—	500	—	500	—	—	500	500	500	500	—

Als Parzelle XII wurde ein Teilstück bezeichnet, das, an jene Parzellen unmittelbar angrenzend, im Versuchsjahre (1907) als Brachland bearbeitet wurde und seit längerer Zeit keinen Stalldünger erhalten hatte. Parzelle XIII bis XV stellen eine Dreifelderwirtschaft dar; Parzelle XIII trug 1907 Hafer, Parzelle XIV lag brach, Parzelle XV war mit Weizen bestellt. Hier wird zum Wintergetreide Stalldung gegeben, dagegen kommen künstliche Düngemittel nicht zur Anwendung. Parzelle XVI wird alljährlich verschieden gedüngt und bebaut; in der Regel trägt sie zu Demonstrationszwecken bestimmte Gewächse, 1907 Lein. Wir benutzten sie in erster Linie für die auf die Ermittelung des Einflusses der Jahreszeit gerichteten Versuche.

Da man nicht damit rechnen darf, Azotobacter während des ganzen Jahres aus einer Erde in ausgiebiger Menge anhäufen zu können, sondern namentlich im Sommer mit der Vorherrschaft anderer stickstofffixierender Arten rechnen muß, so wurden in unseren Versuchen die fixierten Stickstoffmengen stets quantitativ ermittelt. Dieses Verfahren verdient entschieden den Vorzug vor dem von Christensen[5]) u. A. befolgten, durch eine kleinere oder größere Zahl von + die Stärke

1) Vgl. Landw. Jahrb. 1907. p. 901.

2) Berthelot, Compt. rend. T. CXV. 1892. p. 569.

3) Warmbold, Landw. Jahrb. 1906. Diss. Göttingen, 1905. p. 50.

4) Aus neueren Untersuchungen Krzemieniewskis (l. c. 1907 p. 747) geht hervor, daß die Humusstoffe dann sehr günstig wirken können, wenn gleichzeitig Zucker vorhanden ist.

5) Christensen, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. p. 109.

der Azotobacter-Entwickelung zu charakterisieren. Christensen hat allerdings bei seinen Versuchen Azotobacter-Rohkulturen regelmäßig eingeimpft; er machte sich so in gewissem Grade unabhängig von dem durch den Wechsel der Jahreszeit bedingten Wechsel der Mikroflora. Indessen bleibt jene Bestimmungsmethode doch so subjektiv, daß sie mindestens für exakte Versuche nicht verwendet werden sollte.

Mit dem K_2HPO_4- bezw. $CaCO_3$-Zusatz verhielt es sich so, daß

in der 1. Versuchsreihe sämtliche Kolben weder K_2HPO_4 noch $CaCO_3$ erhielten,
„ „ 2. „ wurde überall K_2HPO_4, aber kein $CaCO_3$ verwendet,
„ „ 3. „ erhielt nur die eine Hälfte der Kolben (a) K_2HPO_4, $CaCO_3$ wurde nicht gegeben,
„ „ 4. u. 5. „ erhielten sämtliche Kolben K_2HPO_4, die eine Hälfte (a) außerdem noch $CaCO_3$.

Die Anfangstermine der Versuchsreihen sowie die in der mit 10 Proz. Erde von Parzelle I—XV geimpften Mannit- bezw. Rohrzuckerlösung assimilierten Stickstoffmengen[1]) sind (in mg pro 100 ccm) in Tabelle II und III (p. 785 u. 786) zusammengestellt.

Ein Blick auf die Zahlenreihen läßt sofort erkennen, daß in der Mannit-Lösung sehr beträchtliche, in der Rohrzucker-Lösung dagegen nur sehr geringe Unterschiede zur Geltung kamen. In der Hauptsache sind diese Differenzen zurückzuführen auf den Einfluß, den die Düngung und die Jahreszeit auf die Intensität der Stickstoffbindung ausüben, in geringerem Grade auf die Wirkung einer K_2HPO_4- bezw. $CaCO_3$-Zugabe, die wir zunächst etwas näher ins Auge fassen wollen.

Wie speziell aus den Ergebnissen der Versuchsreihen 1—3 zu ersehen ist, war die An- oder Abwesenheit von K_2HPO_4 auf den in der Rohrzuckerlösung erzielten Effekt fast ohne Einfluß. Aehnliches gilt für die Mannitlösung in denjenigen Fällen (speziell Parzelle I—VI), in denen infolge sehr geringer oder fehlender Azotobacter-Entwickelung die Stickstoffbindung sich nicht zu ansehnlicher Höhe zu erheben vermochte. Ganz anders dagegen dort, wo die Bodenbeschaffenheit der betreffenden Teilstücke (VIII—XV) eine üppige Azotobacter-Vegetation ermöglichte. Am stärksten machte sich der fördernde Einfluß der K_2HPO_4-Zugabe entschieden dann geltend, wenn mit Superphosphat gedüngte Erde (Parzelle VIII—X) zur Verwendung kam. In geringerem Grade gilt dies für die nur mit Stallmist gedüngten Parzellen XIII—XV, die nur in der 3. Versuchsreihe einen deutlichen Unterschied zu Gunsten des K_2HPO_4 erkennen lassen. Während es also nach den bisher von Christensen mitgeteilten Befunden so schien, als ob die Zugabe von

1) Um nicht unnötig viel Zahlenmaterial zu bringen, beschränke ich mich auf die Wiedergabe der Stickstoffgewinne. Interessenten finden in Pillais Arbeit sämtliche Einzelergebnisse. Da nur in den beiden ersten Versuchsreihen die Parallelkolben gleich behandelt wurden, so sind in den drei letzten Versuchsreihen diejenigen Zahlen als Parallelresultate anzusehen, die sich für die beiden Erdproben, die jedesmal genommen wurden, ergaben. Wie aus den Tabellen hervorgeht, sind die Abweichungen nicht bedeutend. Die Maximaldifferenz hält sich zwischen 5 und 15 Proz., ist also nicht größer, wie sie bei mit Erde durchgeführten Stickstoffbindungsversuchen in den Parallelkolben zu sein pflegt. Voraussetzung ist hierbei allerdings, daß man die Erdproben aus einer bestimmten Erdschicht (ca. 10 cm Tiefe) entnimmt, andernfalls ergeben sich oft recht störende Differenzen, wie dies u. a. aus Untersuchungen von Vorhees, Lipman und Brown hervorgeht, die vor kurzem im Bulletin 210 der New Jersey Agric. Exp. Stations veröffentlicht wurden und demnächst im Centralblatt referiert werden sollen.

Tabelle II. Stickstoffgewinne in Mannit-Bodenextrakt.

Parzelle	Erdprobe	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe			3. Versuchsreihe			4. Versuchsreihe			5. Versuchsreihe		
		Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b
I	1	8./3.	1,50	1,72	19./4.	1,72	1,98	11./5.	2,68	1,70	27./6.	5,00	3,60	10./10.	5,04	4,34
	2	„	1,84	1,98	„	1,86	1,98	„	2,40	1,32	„	5,10	3,40	„	5,74	4,06
II	1	„	1,02	1,02	„	2,22	2,50	„	3,38	2,12	„	4,42	4,28	„	4,34	4,06
	2	„	1,36	1,55	„	2,08	2,22	„	3,28	1,54	„	4,60	4,42	„	4,50	4,08
III	1	„	1,56	1,96	„	2,40	2,12	„	3,10	2,96	„	4,02	3,66	„	4,44	4,16
	2	„	1,66	1,24	„	2,56	2,40	„	3,12	3,26	„	4,10	3,80	„	4,20	4,06
IV	1	15./3.	1,36	1,14	„	2,40	2,40	18./5.	2,66	2,38	15./7.	4,06	3,78	15./10.	4,22	3,92
	2	„	1,28	1,14	„	2,54	2,40	„	2,96	2,80	„	4,20	3,92	„	4,48	4,20
V	1	„	1,90	1,98	„	2,26	1,84	„	2,38	1,70	„	5,74	3,22	„	4,48	3,50
	2	„	1,56	1,84	„	2,12	1,98	„	2,24	1,72	„	5,88	3,36	„	4,34	3,50
VI	1	„	1,14	1,28	„	2,16	2,10	„	3,22	2,22	„	4,62	3,54	„	4,26	3,64
	2	„	1,84	1,84	„	2,22	1,96	„	2,90	2,60	„	4,48	3,40	„	4,20	3,78
VII	1	27./3.	1,70	1,84	26./4.	2,52	2,52	28./5.	—	—	16./7.	5,08	3,96	28./10.	4,20	4,06
	2	„	1,32	1,74	„	2,40	2,52	„	—	—	„	4,94	3,68	„	5,04	4,76
VIII	1	„	1,56	1,56	„	5,20	5,76	„	7,04	3,68	„	6,04	4,04	„	6,90	6,76
	2	„	1,42	1,84	„	5,34	5,20	„	7,32	3,82	„	6,18	3,90	„	7,18	6,76
IX	1	„	1,54	1,28	„	6,18	5,76	„	7,78	3,40	„	5,64	3,54	„	7,04	6,76
	2	„	1,54	1,40	„	6,04	5,90	„	7,04	3,12	„	5,78	3,40	„	7,18	7,04
X	1	5./4.	2,18	1,90	„	5,50	5,62	6./6.	7,84	4,20	1./8.	6,02	3,78	2./11.	7,14	7,00
	2	„	2,12	2,12	„	5,64	5,50	„	7,94	4,20	„	6,44	4,06	„	7,28	7,00
XI	1	„	1,56	1,42	„	3,50	3,64	„	5,32	2,80	„	6,32	3,50	„	4,76	4,20
	2	„	1,84	1,42	„	3,36	3,50	„	5,74	3,22	„	6,18	3,64	„	4,48	4,06
XII	1	„	2,52	2,52	„	4,18	4,46	„	4,62	2,66	„	6,02	3,92	„	5,74	5,18
	2	„	3,06	2,64	„	4,04	4,32	„	4,90	2,94	„	6,16	3,78	„	5,70	4,90
XIII	1	12./4.	2,68	2,40	3./5.	2,12	2,12	18./6.	6,08	2,82	2./8.	3,80	3,52	5./11.	5,48	5,06
	2	„	2,68	2,54	„	2,26	2,40	„	5,52	3,10	„	3,94	3,66	„	5,34	5,06
XIV	1	„	2,96	2,68	„	2,96	2,68	„	6,40	3,10	„	4,78	4,64	„	5,20	5,34
	2	„	2,82	2,68	„	2,82	2,96	„	6,18	3,10	„	4,50	4,22	„	5,06	5,20
XV	1	„	2,96	2,82	„	2,96	2,82	„	6,22	3,22	„	4,08	3,80	„	5,48	5,20
	2	„	2,82	2,68	„	2,82	2,68	„	6,00	3,38	„	4,22	3,66	„	5,34	5,20

K_2HPO_4 zur Mannitlösung besonders dann fördernd wirkte, wenn phosphorsäurebedürftige Erde als Impfmaterial diente, hat sich im vorliegenden Falle die Sache so gestaltet, daß sich der günstigste Einfluß auf den mit Superphosphat gedüngten, und wie die weiterhin mitzuteilenden Ernteergebnisse lehren, jedenfalls einer verstärkten Phosphorsäurezufuhr nicht bedürfenden Parzellen (VIII—X) geltend machte; bei den entschieden für Phosphatdüngung dankbaren Parzellen I—VI wirkte der K_2HPO_4-Zusatz so gut wie gar nicht, wohl aber auf Parzelle XIII—XV, deren Erträge, wie ein gleichzeitig ausgeführter Düngungsversuch lehrte, durch Superphosphatdüngung beträchtlich erhöht wurden[1]). Nach unseren Versuchsresultaten kann demnach allerdings manchmal die Erhöhung der Stickstoffbindung und die Steigerung der Azotobacter-Entwickelung in den Versuchskolben mit Phosphorsäurebedürftigkeit der

1) Eine Düngung mit 2 dz Superphosphat zu Hafer (Parz. XIII) steigerte die Ernte pro Hektar um reichlich 11 dz Korn + Stroh, ca. 6 dz davon entfielen auf den Kornertrag.

Tabelle III. Stickstoffgewinne in Rohrzucker-Bodenextrakt.

Parzelle	Erdprobe	1. Versuchsreihe			2. Versuchsreihe			3. Versuchsreihe			4. Versuchsreihe			5. Versuchsreihe		
		Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b	Datum	a	b
I	1	8./3.	2,82	2,52	19./4.	2,82	2,50	11./5.	3,10	1,70	27./6.	4,74	3,48	10./10.	3,78	3,08
	2	„	2,76	2,28	„	2,96	2,64	„	3,24	2,02	„	4,90	3,40	„	3,92	3,36
II	1	„	1,85	1,93	„	3,64	3,64	„	3,40	2,14	„	3,92	3,70	„	3,66	3,36
	2	„	2,44	2,12	„	3,50	3,36	„	3,50	2,14	„	3,94	3,60	„	4,08	3,74
III	1	„	2,64	2,26	„	2,82	2,96	„	3,24	2,96	„	3,40	3,54	„	3,94	3,66
	2	„	2,12	2,40	„	2,96	2,82	„	3,08	2,80	„	3,62	3,44	„	3,64	3,36
IV	1	15./3.	2,40	2,00	„	3,66	3,24	18./5.	3,68	3,40	15./7.	3,60	3,46	15./10.	3,78	3,64
	2	„	2,10	2,12	„	3,52	3,36	„	3,26	3,00	„	3,74	3,60	„	3,64	3,36
V	1	„	2,21	2,40	„	2,40	2,26	„	3,26	2,46	„	4,80	3,08	„	3,64	3,08
	2	„	3,10	2,68	„	2,54	2,40	„	3,12	2,48	„	4,64	3,22	„	3,56	3,08
VI	1	„	1,70	1,48	„	3,38	3,00	„	3,40	2,12	„	4,10	3,26	„	3,50	3,22
	2	„	1,56	1,28	„	3,24	3,10	„	3,54	2,84	„	3,96	3,40	„	3,92	3,64
VII	1	27./3.	2,00	2,12	26./4.	3,24	3,66	28./5.	—	—	16./7.	4,00	3,30	28./10.	3,36	3,08
	2	„	1,60	1,74	„	3,10	3,52	„	3,30	3,44	„	4,14	3,58	„	3,50	3,22
VIII	1	„	1,92	2.00	„	3,10	3,24	„	3,72	3,58	„	4,42	3,58	„	4,24	3,40
	2	„	1,70	1,42	„	3,72	3,38	„	3,58	3,44	„	4,28	3,86	„	4,24	3,82
IX	1	„	2,12	2,40	„	3,86	3,56	„	3,90	3,40	„	4,98	3,58	„	4,10	3,68
	2	„	2,26	2,01	„	3,72	3,56	„	3,50	3,12	„	4,70	3,72	„	4,10	3,54
X	1	5./4.	2,62	2,90	„	3,94	3,52	6./6.	4,34	3,22	1./8.	4,76	3,36	2./11.	4,76	3,80
	2	„	3,38	2,90	„	3,80	3,66	„	4,42	3,22	„	4,62	3,64	„	4,62	3,80
XI	1	„	2,12	2,40	„	3,24	3,10	„	3,10	2,82	„	4,48	3,36	„	4,48	3,64
	2	„	2,26	2,82	„	3,38	3.24	„	3,36	3,08	„	4,62	3,50	„	4,20	3,50
XII	1	„	3,96	3,82	„	3,14	3,00	„	3,22	2,12	„	4,34	3,36	„	4,34	3,78
	2	„	3,66	3,38	„	3,24	2,96	„	3,36	2,40	„	4,20	3,50	„	4,20	3,64
XIII	1	12./4.	3,24	3,10	3./5.	2,68	2,82	18./6.	3,10	2,82	2./8.	3,10	3,24	5./11.	3,54	3,40
	2	„	3,24	2,96	„	2,82	2,68	„	3,20	2,96	„	3,66	3,38	„	3,80	3,52
XIV	1	„	3,24	3,10	„	3,38	3,10	„	3,74	3,24	„	3,66	3,38	„	3,52	3,52
	2	„	3,00	3,14	„	3,24	3,38	„	3,24	3,10	„	3,52	3,52	„	3,66	3,80
XV	1	„	3,26	3,00	„	3,22	3,22	„	3,52	3,24	„	3,66	3,52	„	3,80	3,66
	2	„	3,64	3,26	„	3,38	3,52	„	3,66	3,10	„	3,80	3,38	„	3,80	3,66

betreffenden Erde Hand in Hand gehen, ebensogut ist aber der Fall möglich, daß dieser Parallelismus nicht hervortritt, ja er kann sich sogar in das Gegenteil verkehren. Zwar differieren unsere Versuchsbedingungen von denjenigen Christensens insofern, als wir nicht wie er die Lösungen außer mit Erde auch mit Azotobacter-Rohkultur impften, indessen erscheint es wenig wahrscheinlich, daß die Resultate bei einer entsprechenden Modifikation des Verfahrens wesentlich andere geworden wären. Denn bei entsprechenden Parallelversuchen, die wir gelegentlich der Feststellung des durch eine $CaCO_3$-Zugabe bewirkten Effektes ausführten, war dies, wie sogleich nachzuweisen sein wird, entschieden nicht der Fall.

Ueber die Wirkung eines $CaCO_3$-Zusatzes orientieren die Versuchsreihen 4 und 5. In der Rohrzuckerlösung war die dadurch bewirkte Steigerung der Stickstoffernten nur gering, verschwand mitunter sogar völlig. Bestimmte Schlüsse können aus diesen unbedeutenden Differenzen nicht gezogen werden. Dagegen gab die Mannitlösung

wiederum sehr instruktive Resultate. Die Verhältnisse sind hier folgende: 1) Läßt die betreffende Erde zu der für die Azotobacter-Entwickelung günstigen Jahreszeit diese Organismen zu üppiger Entfaltung kommen, so wirkt in der günstigen Jahreszeit ein $CaCO_3$-Zusatz kaum oder nicht, entschieden fördernd dagegen in der ungünstigen Jahreszeit. Dies tritt am deutlichsten bei den (mit Kalk und anderen Mineraldüngern versehenen) Parzellen VIII—X in Erscheinung. Parzelle XI und XII zeigt, wenn auch nicht so klar, ein ähnliches Verhalten. 2) Liefert die betreffende Erde auch in der günstigen Jahreszeit keine Azotobacter-Vegetation, so bleibt die $CaCO_3$-Zugabe entweder nahezu unwirksam (vergl. Parzelle II—IV) oder es macht sich eine mäßige Förderung bemerklich (vergl. Parzelle I, V und VI). 3) Schließlich ist aber auch der Fall möglich, daß die Erden in der günstigen Jahreszeit eine immerhin ansehnliche Azotobacter-Entwickelung zustande kommen lassen, trotzdem aber gar nicht auf eine $CaCO_3$-Zugabe zur Lösung reagieren (Parzelle XIII—XV).

Auch hier liegen also die Dinge keineswegs so klar und einfach, wie dies nach Christensens Mitteilungen hätte erwartet werden können. Als Anhaltspunkte zur Beurteilung der Kalkbedürftigkeit des Bodens sind diese Ergebnisse offenbar nicht brauchbar. Wie die K_2HPO_4-Zugabe besonders günstig wirkte, wenn mit Superphosphat gedüngte Erde zur Verwendung kam, so machte sich der Einfluß des $CaCO_3$ am stärksten auf den mit Kalk (und anderen Mineralstoffen) gedüngten Parzellen bemerklich. Die Resultate wurden auch nicht anders, wenn wir in die mit Erde geimpfte Lösung etwas Azotobacter-Rohkultur einbrachten, wie folgende Zahlen beweisen:

	mit Azotobacter geimpft		nicht mit Azotobacter geimpft	
	mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$	mit $CaCO_3$	ohne $CaCO_3$
Parzelle I	7,70 mg	6,52 mg	5,05 mg	3,50 mg
„ II	7,28 „	7,02 „	4,51 „	4,35 „
„ III	7,14 „	6,94 „	4,06 „	3,73 „

Die Unterschiede zugunsten der $CaCO_3$-Zugabe sind bei Parzelle I ohne Azotobacter-Impfung sogar beträchtlicher als in den mit Azotobacter geimpften Kolben. — Wenn also, wie aus den bisher vorliegenden einschlägigen Arbeiten zu ersehen ist, eine Zugabe von $CaCO_2$ zur Mannitlösung einen günstigen Einfluß auf die Azotobacter-Entwickelung teils bei Verwendung von kalkreichen, teils bei der Prüfung kalkarmer Erden gegeben hat und mitunter (wie bei den von S. und H. Krzemieniewski ausgeführten Untersuchungen) zu verschiedenen Zeiten die Resultate differierten, so entspricht dies durchaus den obigen Ermittelungen. Neben der Wirkung des Mineralstoffvorrats im Boden sind eben allerhand andere Faktoren zu berücksichtigen, unter denen der Einfluß der Jahreszeit nicht einer der unwichtigsten ist.

Die Abhängigkeit der Intensität der Stickstoffbindung von der differenten Düngung des Bodens tritt wiederum in der Rohrzuckerlösung so gut wie gar nicht, deutlich dagegen in der phosphathaltigen Mannitlösung zutage. Es kommen an dieser Stelle die Ergebnisse der 2. bis 5. Versuchsreihe, speziell Parzelle I—XI in Betracht, und zwar aus den dargelegten Gründen ausschließlich die ohne $CaCO_3$-Zusatz erlangten. Setzt man die für Parzelle I gewonnenen Resultate = 100, so ergeben sich folgende Relationen:

Versuchsreihe	2	3	4	5	Durchschnitt
I. ungedüngt	100	100	100	100	100
II. Kalk	119	130	125	97	118
III. Stalldünger	130	120	105	100	114
IV. Stalldünger + Kalk	130	110	110	97	112
V. Chilesalpeter	110	90	94	83	94
VI. ungedüngt	110	120	100	86	104
VII. Salpeter + Kalisalz + Kalk	150	—	110	105	122
VIII. Salpeter + Superphosphat + Kalisalz + Kalk	270	280	114	160	206
IX. Ammonsulfat + Superphosphat + Kalisalz + Kalk	350	275	100	170	224
X. Salpeter + Superphosphat + Kalk	310	310	112	165	224
XI. ungedüngt	184	217	102	110	153

Die Zahlen der 2. und 3. (im April und Mai ausgeführten) Versuchsreihe sind entschieden sehr instruktiv; auch die Durchschnittszahl der 4 Einzelreihen läßt noch unverkennbar den günstigen Einfluß der mineralischen Volldüngung hervortreten. Ganz unbrauchbar zur Beantwortung der Düngungsfrage erweisen sich dagegen die Versuchsreihen 4 und 5. Die bedeutenden Schwankungen in der Höhe der zu verschiedener Jahreszeit fixierten Stickstoffquantitäten trüben hier das Bild vollständig. Daß auch allerhand andere Komplikationen mitsprechen können, lehren die für die drei ungedüngten Parzellen I, VI und XI erlangten Resultate [1]). Es ist auf Grund dieser Befunde unbestreitbar, daß eine einmalige Prüfung der betreffenden Erden ein einigermaßen sicheres Urteil über den chemischen Zustand des Bodens nicht gestattet. Nur bei mehrmals wiederholter Probenahme können eventuell brauchbare Resultate gewonnen werden, aber auch dann ist große Vorsicht beim Ziehen der Schlüsse unentbehrlich. Der sehr starken Erhöhung der Stickstoffassimilationswerte bei Verwendung der Erde von Parzelle VIII—X entsprechen die auf den betreffenden Teilstücken ermittelten Erntezahlen nur in gewissem Grade, und auch im übrigen ergeben sich zwischen Stickstoffgewinn und Höhe des Ertrages zum Teil recht beträchtliche Differenzen, wie aus folgender Uebersicht klar hervorgeht. Rechnet man die in den Jahren 1904 bis 1906 auf den Parzellen I—XI erzielten Gesamterträge [2]) in analoger Weise um, und setzt man sie in Parallele mit den Durchschnittszahlen für die Stickstoffbindung, so ergeben sich nachstehende Zahlenreihen:

(Siehe Tabelle p. 789.)

Wie man sieht, schwanken die Vergleichswerte bei den Ernten der verschiedenen Jahre innerhalb ziemlich weiter Grenzen; dies entspricht der hinlänglich bekannten Tatsache, daß die Resultate eines nur ein Jahr durchgeführten Versuches keinen ganz sicheren Anhalt über den chemischen Zustand und die Düngerbedürftigkeit eines Feldes gewähren. Den höchsten Durchschnittserträgen entsprechen allerdings die höchsten Stickstoffzahlen; der Ausschlag ist indessen bei diesen weit größer. Der Ertragssteigerung durch die Salpeterdüngung (Parzelle V) steht eine

1) Die Stärke der Gärung war, wie beiläufig bemerkt sein mag, fast überall die gleiche; verschiedene, der differenten Düngung entsprechende Grade, wie sie Christensen (l. c. p. 380) aufstellte, waren nicht zu erkennen.

2) Die Einzelangaben über die Jahresernten finden sich in Pillais Dissertation. Im Jahre 1907 war das Feld mit Klee bestanden, der jedoch durch Frost und Schädlinge in seiner Entwickelung so beeinträchtigt wurde, daß er, ohne einen Ertrag geliefert zu haben, im Juni untergepflügt wurde. Im August wurde dann das Feld mit Sandwicken und Roggen bestellt.

Gesamterträge	1904 (Hafer)	1905 (Bohnen)	1906 (Roggen)	Durchschnitt	N-Gewinn Durchschnitt
I. ungedüngt	100	100	100	100	100
II. Kalk	93	96	125	105	118
III. Stalldünger	100	108	150	119	114
IV. Stalldünger + Kalk	100	121	140	120	112
V. Chilesalpeter	116	107	133	119	94
VI. ungedüngt	85	93	105	94	104
VII. Salpeter + Kalisalz + Kalk	132	120	164	139	122
VIII. Salpeter + Superphosphat + Kalisalz + Kalk	150	128	178	152	206
IX. Ammonsulfat + Superphosphat + Kalisalz + Kalk	126	111	180	139	224
X. Salpeter + Superphosphat + Kalk	150	117	175	147	224
XI. ungedüngt	66	97	91	85	153

Depression der Stickstoffassimilation gegenüber. Und bei den ungedüngten Parzellen I, VI und XI entsprechen sinkenden Erträgen steigende Stickstoffzahlen. Es ist nicht unmöglich, daß hier die wiederholt gemachte Erfahrung mit in Frage kommt, derzufolge eine Steigerung des Stickstoffvorrats im Boden mit einer Abnahme der Intensität der Stickstoffbindung Hand in Hand geht. Nimmt man an, daß die auf Parzelle XI deutlich zutage tretende Verschiedenheit in der Bodenbeschaffenheit sich vielleicht auch auf den benachbarten Parzellen VIII—X geltend machte, und führt man danach die entsprechende Umrechnung aus, so ergeben sich folgende Relationen von Stickstoffgewinn und Durchschnittsertrag auf dem Felde:

Parzelle	VIII	IX	X	XI
Stickstoffgewinn	136	149	149	100
Gesamterträge	152	139	147	85

Auf diese Weise würde man im ganzen zu leidlich übereinstimmenden Resultaten gelangen, und es ist natürlich durchaus nicht von der Hand zu weisen, daß gelegentlich ähnlich günstige Ergebnisse sich bei derartigen Untersuchungen ergeben können. Eine unbedingte Notwendigkeit ist es aber hierbei, was Christensen nicht hinreichend beachtet hat, daß die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche durch zweckmäßig angelegte Versuche auf dem betreffenden Felde eingehend kontrolliert werden. Wie ich schon früher in Bezug auf vergleichende bakteriologische Untersuchungen verschiedener Böden einige Reserve empfahl und besonders gründliche und umfassende Prüfung eines bestimmten Bodens für zweckmäßig erachtete, so scheint mir auch in diesem Falle ein vorsichtiges und schrittweises Vorwärtsgehen entschieden sehr am Platze. Denn es ist eben keineswegs allein der Nährstoffvorrat im Boden, der auf das Gedeihen der Mikroflora bestimmend einwirkt, sondern allerhand andere Faktoren verlangen gleichfalls eingehende Berücksichtigung; sie können in gleicher, ebensogut aber auch in entgegengesetzter Richtung wirken. Außerdem muß wohl beachtet werden, daß, wie die Ansprüche der verschiedenen Arten landwirtschaftlicher Nutzpflanzen, so noch vielmehr der Bedarf der differenten Gruppen von Mikoorganismen in Bezug auf Quantität und Qualität der einzelnen Nährstoffe mehr oder minder weitgehende Abweichungen zeigen kann. Die stickstofffixierenden Organismen, unter ihnen vor allem Azotobacter, scheinen, wie dies sowohl aus unseren oben mitgeteilten Ergebnissen, wie auch aus einigen Beobachtungen A. Kochs [1]) hervorgeht, speziell auf Phosphorsäure viel schärfer

1) Koch, A., Mitteilungen der Deutsch. Landw.-Ges. 1907. p. 110. Journal für Landw. Bd. LV. 1907. p. 355.

zu reagieren, als dies die Nutzpflanzen im allgemeinen tun. In geringerem Grade scheint dies auch hinsichtlich des Kalkes zuzutreffen.

Auf Grund der bisherigen Ausführungen müssen wir schließen: Die Ergebnisse der mit Erde eingeleiteten Umsetzungsversuche in Mannitlösungen können zwar einen ungefähren Anhalt in bezug auf die Fruchtbarkeit des Feldes, speziell hinsichtlich des Vorrates an aufnehmbaren Mineralstoffen im Boden gewähren; indessen ist doch auch der Fall keineswegs ausgeschlossen, daß die Resultate auf gleich gedüngten Teilstücken starke Abweichungen zeigen und durchaus nicht harmonieren mit den Erträgen, die sich bei Anbauversuchen herausstellen.

Weitere Untersuchungen müssen Aufklärung darüber bringen, ob in anderer Weise befriedigendere Ergebnisse erlangt werden können. Zuverlässige Auskünfte sind aber meines Erachtens in dieser Richtung nur zu gewinnen, wenn im Umsetzungsversuch der Effekt durch genaue quantitative Ermittelungen festgelegt und durch entsprechende Versuche auf dem Felde oder im Vegetationsgefäß für die nötige Kontrolle gesorgt wird.

Daß bei derartigen Versuchen die Größe des Vorrates an aufnehmbaren Mineralstoffen keineswegs allein maßgebend ist, konnte von vornherein nicht zweifelhaft sein. Und aus allen sorgfältig ausgeführten Arbeiten der letzten Jahre geht denn auch übereinstimmend hervor, daß durch zahlreiche Faktoren die Mikroflora des Bodens sowohl in ihrer Zusammensetzung wie in ihren Leistungen mehr oder minder stark beeinflußt werden kann; mit Hilfe der Remyschen Untersuchungsmethode konnten in den verschiedensten Richtungen wertvolle Aufschlüsse erreicht werden. Die weitere Ausgestaltung und Sicherstellung dieser Methodik erscheint gegenwärtig von besonderer Bedeutung. Um so bedauerlicher ist es aber, wenn in Mitteilungen aus bakteriologischen Laboratorien, von denen man doch eine Förderung der Agrikulturbakteriologie erwarten sollte, infolge mangelnder Erfahrung und unzulänglicher Kenntnis der Literatur derartig irreführende Angaben gemacht werden, wie dies in der von Dr. Rahn auf Veranlassung und unter Leitung von Dr. Heinze ausgeführten und schon eingangs erwähnten Arbeit[1]) der Fall ist. Der Schlußsatz dieser Veröffentlichung lautet (l. c. p. 61): „Alle angeführten Resultate lassen sich allein durch die Löslichkeit der Mineralstoffe in den untersuchten Erden erklären; es scheint mir daher leicht möglich, daß die Unterschiede im bakteriologischen Verhalten verschiedener Böden zum großen Teil auf die verschiedene Menge der löslichen Mineralbestandteile zurückzuführen sein werden, da die Methoden" (d. h. die nach Remy) „über Zahl und Art der Bodenorganismen zur Zeit nur sehr ungenügende Aufschlüsse geben. In diesem Falle würde die chemische Analyse schneller und wohl auch sicherer zu einer sachgemäßen Bodenbeurteilung führen". — Daß diese Ausführungen durchaus unrichtig und irreführend sind, ist zwar für jeden, der sich etwas näher mit bodenbakteriologischen Untersuchungen beschäftigt hat, ohne weiteres klar. Indessen dürfte doch in Anbetracht der Stellung, welche die landwirtschaftliche Bakteriologie gegenwärtig in Deutschland und speziell an den landwirtschaftlichen Versuchsstationen im allgemeinen noch einzunehmen gezwungen ist, eine entsprechende Richtigstellung nicht

1) Rahn, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 38.

gänzlich überflüssig sein, um so mehr als es sich hier um eine Veröffentlichung aus dem bakteriologischen Laboratorium einer agrikulturchemischen Versuchsstation handelt.

Die eigenen Resultate, auf die Rahn seine Schlüsse gründet, sind im ganzen zwei mit zwei Erden ausgeführte Peptonzersetzungsversuche. Weil hier die reichere Erde kräftiger wirkte, besonders dann, wenn sie fein zerrieben wurde, während eine Nährsalzzugabe die Unterschiede verminderte, so ist (nach Rahn) „als sicher anzunehmen, daß diese Zunahme allein in einer stärkeren Löslichmachung von Mineralstoffen durch das Zerkleinern beruht“. Auf den gleichen Umstand sei es auch zurückzuführen, daß in ähnlichen von Lipman und Vorhees[1]) ausgeführten Versuchen der Zusatz von Nährsalzen zur Peptonlösung die Unterschiede im Verhalten der verschieden gedüngten Erden verwischte. Die Theorie von der ausschlaggebenden Bedeutung der löslichen Mineralsubstanzen leidet jedoch bereits an denjenigen Ergebnissen der beiden amerikanischen Forscher ernstlich Schiffbruch, bei deren Gewinnung nicht Erde, sondern Erdaufschwemmung zur Impfung der Peptonlösung verwendet wurde. Die Verhältnisse gestalteten sich folgendermaßen (mg N durch Magnesia abspaltbar in 50 ccm):

Bei Verwendung von Erdsorte No.	1	2	3	4
Erde	38,85	42,45	47,32	49,04
Erdaufschwemmung	22,23	15,92	28,11	28,81

Die für die betreffenden Erden charakteristischen Unterschiede waren also bei Benutzung der entsprechenden Erdaufschwemmung nicht wahrnehmbar; die löslichen Mineralstoffe haben demnach keinen deutlich hervortretenden Einfluß ausgeübt[2]). Gegen Rahns Hypothese sprechen ferner ganz entschieden die charakteristischen Schwankungen des Zersetzungsgrades, die sich im Verlaufe eines Jahres zu zeigen pflegen. Sie vollziehen sich in gewissem Grade unabhängig von Temperatur und Feuchtigkeit des Bodens, also unbeeinflußt von jenen Faktoren, die für die Löslichkeit der Mineralstoffe maßgebend sind. Und schließlich hat ja auch Rahn selbst bei seinen Versuchen über den Einfluß, den das Trocknen des Bodens auf die Intensität des Verlaufes verschiedener Umsetzungen mitunter ausübt, konstatieren können, daß in diesem Falle

1) 26th Annual Report New Jersey State Agric. Experim. Station. 1905.

2) Auf Grund der oben wiedergegebenen Befunde hatte ich (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. p. 525) gesagt, daß die damals von Buhlert und Fickendey empfohlene Aenderung des Remyschen Verfahrens (statt Erdimpfung Verwendung von Erdaufschwemmung) nicht zweckmäßig erscheine, da die charakteristischen Differenzen hierbei verschwinden können. Der Einwand Rahns, ich hätte nicht beachtet, daß von den Erden je 5 g, in der Erdaufschwemmung aber nur eine 3,3 g Erde entsprechende Substanzmenge zur Anwendung kam, ändert natürlich nichts an der Sache. Wäre dieses Moment von irgend welcher Bedeutung, dann müßte doch jedenfalls ein Parallelismus bei den betreffenden Zahlen erkennbar sein. Weitere Mitteilungen Lipmans (27. New Jersey Stat. Report. 1906. p. 119 ff.) bestätigen zudem von neuem, daß auch dann, wenn eine der Erdquantität genau entsprechende Erdaufschwemmung verwendet wurde, den früheren durchaus (auch hinsichtlich der Höhe der umgesetzten Stickstoffmengen) analoge Resultate sich ergaben. Ich muß demnach bei meinen früher in dieser Hinsicht abgegebenen Urteil verharren. Wenn auch mitunter die Erdaufschwemmung korrektere Resultate liefert, so genügt doch die hinlänglich erwiesene Möglichkeit der andersartigen Wirkung vollkommen, um die Verwendung einer Erdaufschwemmung für exakte Versuche als unzulässig zu erweisen. — Uebrigens sagt Lipman in seiner neuen Arbeit (l. c. p. 141) bei der Erörterung seines Versuches mit Peptonlösung ohne bezw. mit Nährsalzzugabe: „The addition of mineral salts to the peptone favored the development of the ammonification bacteria, but was not capable of materially modifying the deep-seated bacteriological differences“ (der untersuchten Böden).

sich gleichfalls die Tatsachen nicht seiner Mineralstofftheorie fügten. Obwohl zu diesen Untersuchungen selbst manches zu sagen wäre, so dürfte es doch durchaus überflüssig sein, länger bei den mitgeteilten Resultaten zu verweilen, da außer Heinze und Rahn wohl noch niemand auf den Gedanken gekommen ist, die zu den Umsetzungsversuchen nach Remy bestimmte Erde zunächst längere Zeit an freier Luft im Laboratorium liegen zu lassen, und sie erst nach dem Austrocknen zur Impfung der Lösungen zu benutzen.

Dagegen muß nachdrücklich auf die Eigenart der Logik hingewiesen werden, die Rahn veranlaßte, den ihm von Heinze gewordenen Auftrag, den Einfluß des Trocknens der Erde näher zu untersuchen, „mit um so größerem Interesse" zu übernehmen, „als die Untersuchungen eine allgemeinere Gültigkeit der bekannten Remyschen Bodenbeurteilungsmethoden fraglich erscheinen lassen" (l. c. p. 38). Er findet, daß die ausgetrocknete Erde andere Werte liefert als die frische. Danach schließt er aber nun nicht etwa, wie man es wohl erwarten sollte, daß es natürlich fehlerhaft ist, wenn man die Erde vor der Verwendung erst tage- oder wochenlang an freier Luft liegen und trocken werden läßt — ihm erscheint vielmehr die Methode selbst bedenklich, obwohl er sich überdies von neuem von der bekannten Tatsache überzeugen konnte, daß die im Laboratorium aufbewahrte Erde dann längere Zeit hindurch gleich wirkt, wenn sie, wie dies bei ordnungsgemäßer Arbeitsweise ja stets der Fall ist, im festschließenden Gefäß aufbewahrt wird. Zu welch seltsamen Schlüssen man aber mit Hilfe von Rahns Logik gelangen würde, geht z. B. daraus deutlich hervor, daß auch die Brauchbarkeit sämtlicher Salpeterbestimmungsmethoden ernstlich in Zweifel gezogen werden müßte, da doch die im Laboratorium getrocknete Erde in der Regel andere Salpeterwerte liefert als die frische.

Die Besonderheit der Rahnschen Logik zeigt sich indessen auch in anderer Richtung. Er nimmt (l. c. p. 57) u. a. an, daß die eine Erde doppelt so viel Bakterien enthalte wie die andere, „und folglich" auch die doppelte Stoffwechselproduktmenge im Umsetzungsversuch liefere. Für ihn gilt: doppelte Zahl = doppelte Wirkung. Daß die Wirksamkeit der Bakterien nicht selten ganz außerordentlich differiert, ist ihm so vollständig unbekannt, daß er (l. c. p. 58) gegen Ehrenberg bemerkt, dessen Folgerung, die Remysche Methode gebe Anhaltspunkte über Virulenz $\times$ Menge der Bakterien, sei „ein ziemlich nichtssagender Ausdruck, da die ‚Virulenz' der Bodenorganismen bisher noch nicht präzise definiert ist und vielleicht niemals genau wird definiert werden können". Ehrenberg habe „also nur eine bisher wenig oder nicht erklärliche Tatsache durch ein unklares Wort ersetzt". Rahn weiß also nicht, daß der Ausdruck „Virulenz" (allerdings unpassend, wie Behrens, Hiltner, Löhnis, Vogel u. A. schon vor Jahren betont haben) gleichbedeutend mit „Wirksamkeit" gebraucht wird; er weiß nicht, daß es z. B. Harnstoffbakterien gibt, deren Spaltungsvermögen sich um das Hundertfache von demjenigen anderer Arten und Rassen unterscheidet; und nur für ihn ist es eine „nicht erklärliche Tatsache", daß 10mal so viel Bakterien, die im Durchschnitt nur $^1/_{10}$ so wirksam (virulent) sind als andere derselben physiologischen Gruppe, keineswegs die 10-fache „Stoffwechselproduktmenge" erzeugen, wie die anderen, sondern nur ungefähr ebenso viel wie diese. Gerade diese Unterschiede quantitativ fassen zu können, ist ja das Wertvolle an Remys Methode, die uns über die Zeit der fruchtlosen Zählereien hinausgeführt hat. Um so ent-

schiedener muß aber die höchst eigenartige Behauptung Rahns (l. c. p. 58) zurückgewiesen werden, die Methode gestatte keine quantitativen Bestimmungen, weil es nicht möglich sei, die Zahl der vorhandenen Bakterien zu ermitteln.

Den Höhepunkt seiner Darlegungen erreicht jedoch Rahn entschieden dort (l. c. p. 58), wo er behauptet, auch von einem „qualitativen Bakteriennachweise" könne „nicht die Rede sein". Weil man mit Hilfe der Beijerinckschen Mannitlösung Azotobacter an zahlreichen Stellen gefunden hat, und weil bei Verwendung verschiedener Lösungen aus derselben Erde verschiedene Bakterienarten angehäuft werden können, so meint Rahn, die Flora richte sich vielmehr nach der Lösung als nach der Erde. Daß in der Tat die Lösung von großem Einfluß bei Anhäufungsversuchen ist, das wußten aber doch wohl die Bakteriologen schon vor Rahn? Oder sollten Beijerinck u. A. erst jetzt durch ihn die entsprechende Belehrung empfangen? Wenn es andererseits Rahn so gänzlich unbekannt ist, wie dies nach seinen Ausführungen der Fall sein muß, daß sich sowohl bei der Verwendung verschiedener Erden, wie auch bei Benutzung derselben Erde (je nach Jahreszeit, Bodenbeschaffenheit etc.) stets mehr oder minder beträchtliche qualitative und quantitative Unterschiede ergeben, welche gerade die Remysche Methode recht gut festzustellen gestattet, so wäre es doch entschieden angebracht, wenn er das Prädikat „ungenügend" nicht den durch diese Methode (natürlich bei richtiger Anwendung derselben) erreichbaren Aufschlüssen zuschriebe, sondern es lieber da verwendete, wo es wirklich am Platze ist. —

Kehren wir nach dieser, leider nicht zu vermeidenden, Abschweifung wieder zu unseren Versuchsergebnissen zurück, so ist zunächst der Brachwirkung mit einigen Worten zu gedenken. Die Rohrzuckerlösung (Tab. III) gibt keine Auskunft; die phosphathaltige Mannitlösung (Tab. II) läßt erkennen, daß im vorliegenden Falle die Brache keinen deutlich erkennbaren Einfluß ausgeübt hat. Die bei Verwendung der Erde von Parzelle XII erzielten Stickstoffgewinne stehen etwas zurück hinter den, allerdings nicht völlig vergleichbaren, die sich für die benachbarten, aber etwas anders gedüngten Parzellen VIII—X ergaben. Einen einwandsfreien Vergleich ermöglichen dagegen die Parzellen XIII bis XV, für die sich folgende Werte ergaben (Milligramm N assimiliert in 100 ccm):

Versuchsreihe	2	3	4	5
XIII. Hafer	2,23	5,80	3,59	5,06
XIV. Brache	2,86	6,29	4,41	5,27
XV. Weizen	2,82	6,11	3,73	5,20

Einen kleinen Vorsprung, namentlich der Haferparzelle gegenüber, zeigt hier die Brache allerdings, doch sind die Differenzen so gering, daß von einer besonderen Bedeutung der Brache für die Stickstoffbindung jedenfalls auch hier nicht gesprochen werden kann. Diese Ergebnisse bestätigen durchaus die von mir wiederholt[1]), auf Grund allgemeiner Erwägungen, zum Ausdruck gebrachte Ansicht, daß die Stickstoffbindung keineswegs ein Privileg der Brache ist, sondern die Bedingungen für das Zustandekommen dieses Prozesses überall dort gegeben seien, wo der Acker eine günstige physikalische und chemische Beschaffenheit besitze. So kann (bei verkrusteter Oberfläche der Felder) das recht-

1) Deutsche landw. Presse. 1904. p. 818; Mitteil. landw. Inst. Breslau. Bd. IV. 1907. p. 45.

zeitige Umbrechen der Stoppel von weit größerer Bedeutung sein [1]). Besitzt dagegen der Acker eine hinreichend lockere Struktur, so kann das Pflügen ganz ohne Einwirkung auf den Verlauf der Stickstoffbindung bleiben. Das geht, wie aus meinen früheren Beobachtungen [1]), so auch aus den oben mitgeteilten Resultaten (von Parzelle I—XI) hervor, die durch das im Juni ausgeführte Unterpflügen des ausgewinterten Klees nicht merklich beeinflußt wurden, nur auf Parzelle I—VII scheint eine geringe fördernde Wirkung Platz gegriffen zu haben.

Die Abhängigkeit der Intensität der Stickstofffixierung von der Jahreszeit tritt am deutlichsten an den für die Parzelle XVI erlangten Resultaten zu tage, da von diesem Teilstück am häufigsten Proben genommen wurden. An Stickstoff wurden in den verschiedenen Versuchsreihen [2]) folgende Mengen assimiliert (Milligramm pro 100 ccm):

Tabelle IV. Parzelle XVI.

Versuchsreihen 1906/07	1. 15. X.		2. 19. IV.		3. 11. V.		4. 6. VI.		5. 15. VII.		6. 1. VIII.		7. 10. X.		8. 5. XI.	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Erdtemperatur in 10 cm Tiefe	9,8°		3,0°		14,2°		12,4°		13,2°		13,0°		13,2°		4,4°	
Erdfeuchtigkeit, Gew.-Proz.	14,50		13,48		12,26		11,67		18,53		17,48		15,12		13,14	
Mannitlösung	9,40	9,96	4,64	5,20	7,14	6,32	7,44	2,12	6,18	6,04	6,18	4,08	8,68	8,40	9,10	8,96
Rohrzuckerlösung	8,60	5,90	2,54	2,40	2,82	2,60	3,24	2,98	4,36	3,66	5,62	3,94	4,16	3,36	4,76	3,36

Wie dies bereits aus den in Tabelle II und III mitgeteilten Zahlen hervorging, bestätigt es sich auch in diesem Falle, daß in der Rohrzuckerlösung kein deutlicher Einfluß der Jahreszeit wahrzunehmen ist, während dieser in der phosphathaltigen (aber $CaCO_3$-freien) Mannitlösung unverkennbar hervortritt [3]). Mit diesen Resultaten stimmen diejenigen Ergebnisse völlig überein, die auf den Parzellen VIII—X erlangt wurden, deren Erde gleichfalls in der günstigen Jahreszeit eine üppige Azotobacter-Vegetation und dadurch bedingte hohe Stickstoffgewinne lieferten. Die vergleichbaren Werte sind hier zwar weniger zahlreich, doch treten die uns hier interessierenden Verhältnisse auch in diesem Falle mit voller Klarheit namentlich dann hervor, wenn die Ergebnisse der ersten vergleichbaren Versuchsreihe (No. 2) = 100 gesetzt und danach die entsprechenden Umrechnungen ausgeführt werden. Es ergibt sich dann folgende Uebersicht:

1907:	April	Mai/Juni	Juli/Aug.	Okt./Nov.
Parzelle VIII	100	138	77	125
„ IX	100	120	60	116
„ X	100	140	70	125

Stellt man neben diese Zahlen die von mir [4]) in den Jahren 1903/04 ermittelten Werte, so vervollständigt sich das Bild in folgender Weise:

1) Löhnis, Mitteil. landw. Inst. Leipzig. 1905. Heft 7. p. 59; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 461, Bd. XV. p. 365.

2) Alle Versuchsreihen bis auf 4b wurden mit phosphathaltiger Lösung durchgeführt. In der 1. sowie in der 5.—8. Reihe wurde die eine Hälfte der Kolben (a) mit $CaCO_3$ beschickt.

3) Die bei Verwendung von der Parzelle XVI entstammender Erde bemerkbare Einwirkung des K_2HPO_4- und des $CaCO_3$-Zusatzes entspricht durchaus den Befunden, die sich für die anderen Parzellen ergaben, speziell für die Parzellen VIII—X, die gleichfalls eine sehr kräftige Azotobacter-Vegetation zu stande kommen ließen.

4) Mitt. landw. Inst. Leipzig. 1905. Heft 7. p. 59; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. p. 365.

1904: März	Mai	Juli	1903: September
100	121	50	100

Das Zurücktreten des Azotobacter im Sommer ist nun seit 1904 nicht nur alljährlich bei den im hiesigen Laboratorium ausgeführten Arbeiten, sondern gelegentlich auch anderwärts [1]) beobachtet worden, so daß es kaum mehr bezweifelt werden kann, daß wir es hier in ähnlicher, wenn auch nicht so stark ausgesprochener Weise, mit einem Frühjahrs- und einem Herbstmaximum zu tun haben, wie dies bei der Cyanamidspaltung und vielleicht auch noch bei anderen Ammoniakbildungsprozessen der Fall ist [2]). Die Azotobacter-Vegetation scheint allerdings in der Regel während des Hochsommers den stärksten Rückgang zu erleiden, während die Cyanamidspaltung ihr Minimum im Winter erreicht. Ein Blick auf die oben mitgeteilten Zahlen läßt erkennen, daß auch hier wieder die Schwankungen in der Intensität der Stickstoffbindung sich in ziemlich weitgehendem Maße unabhängig von Erdtemperatur und Wassergehalt des Bodens vollziehen. Zusatz von Kreide zur Mannitlösung hemmt den Rückgang im Sommer zwar deutlich, aber hebt ihn nicht völlig auf. Wie ich früher [3]) nachwies, wird Azotobacter im Hochsommer durch die zu anderen Zeiten mehr zurücktretenden Formen aus der Pneumoniegruppe stark in den Hintergrund gedrängt [4]). Auf ihr Vorherrschen dürfte auch die geringe Steigerung der Stickstoffgewinne zurückzuführen sein, die sich während des Sommers in der Rohrzuckerlösung bemerkbar macht; wenigstens fanden wir, wie weiterhin nachzuweisen sein wird, in dieser Lösung Vertreter der Pneumoniegruppe ganz überwiegend. Da diese zum großen Teil als Säurebildner wirksam sind, so ist es sehr begreiflich, daß Azotobacter im Sommer nur dann mit leidlichem Erfolg in der Mannitlösung mit ihnen konkurrieren kann, wenn durch Gegenwart von Kreide für Abstumpfung des Säureüberschusses gesorgt wird.

Die Stickstoffbindung, bezw. die Azotobacter-Entwickelung scheint übrigens durch abnorme Witterungserscheinungen etwas stärker beeinflußt zu werden als dies bei der Cyanamidspaltung wahrzunehmen war. In dem sehr regenreichen Sommer 1907 war der Rückgang im Sommer bei weitem nicht so schroff als in dem durch anhaltende Trockenheit ausgezeichneten Sommer 1904. Während aber im Winter 1903/04 sowie im Frühjahr 1904, der Verlauf der Intensitätskurve nichts auffälliges zeigte, scheint der ungemein strenge Winter 1906/07 eine bis weit in das Frühjahr 1907 hereinreichende Schädigung der stickstoffbindenden Organismen, insbesondere des Azotobacter, zur Folge gehabt zu haben. Unsere Beobachtungen decken sich mit den Erfahrungen, die A. Koch und seine Mitarbeiter [5]) bei entsprechenden mit Erde ausgeführten Versuchen gemacht haben; auch hier erreichte die Stickstoffbindung im Januar 1907 einen im Vergleich zu den im Januar 1906 bezw. Februar 1905 festgestellten Ergebnissen auffallend niedrigen Stand.

---

1) Vgl. Keding, Wissensch. Meeresuntersuchungen. Abt. Kiel. N. F. Bd. IX. 1906 (Juli 1905) p. 284. — S. und H. Krzemieniewski, Bull. internat. de l'acad. Cracovie, 1906. (Juni 1906) p. 568.

2) Vgl. Löhnis und Sabaschnikoff, l. c. Bd. XX. p. 330.

3) l. c. Bd. XIV. p. 582.

4) Daß im tropischen Klima mitunter ein entsprechender, und zwar vollständiger Wechsel wahrzunehmen ist, legten wir kürzlich (l. c. Bd. XIX. p. 89) dar.

5) Koch, A., Litzendorff, Krull und Alves, Journ. f. Landw. Bd. LV. 1907. p. 375.

II. Versuche mit Reinkulturen.

Hinsichtlich der Isolierung der in der Mannit- bezw. in der Rohrzuckerlösung zur Entwickelung gelangenden Organismen ist folgendes zu bemerken. Als Substrat für die Gußkulturen sowie für die zur Gewinnung anaërober Formen angelegten Schüttelkulturen (nach Burri) wurde das dem zu den Umsetzungsversuchen verwendeten, phosphathaltigen Mannit- bezw. Rohrzucker-Bodenextrakt entsprechende Agar ($1\frac{1}{2}$ Proz.) benutzt. Das Impfmaterial entstammte denjenigen Kolben, die mit Erde beschickt waren, welche am 11. Mai 1907 von Parzelle XVI entnommen wurde. Die Mannitlösung zeigte die charakteristische Azotobacter-Decke in kräftiger Entwickelung, während in der Rohrzuckerlösung, wie auch zu anderen Zeiten, nur starke Trübung und lebhafte Gärung wahrzunehmen war.

Aus der Mannitlösung entwickelten sich die Kolonieen wieder in den beiden bekannten Typen[1]): 1) erhabene, schleimige, mit der Zeit oft sehr groß werdende Tropfen und 2) flache, unregelmäßig umrandete, durchscheinende Häutchen. Die charakteristischen Kolonieen des Azotobacter konnten erst vom 5. Tage an wahrgenommen werden. Vom ersten Typus wurden 4 Abimpfungen vorgenommen, von denen sich bei näherer Prüfung zwei als Zwischenformen von Bacterium pneumoniae und aërogenes erwiesen, während die beiden anderen durchaus dem Bac. No. 41 Conn entsprachen, der dem nicht gasbildenden, nicht milchkoagulierenden Typus der Pneumoniegruppe angehört[2]). Die erstgenannten Zwischenformen standen im kulturellen Verhalten dem typischen Bact. pneumoniae sehr nahe, doch koagulierten sie nach ca. 3 Wochen die Milch. Vom zweiten Typus wurden 5 Stämme abgeimpft, die sämtlich verschiedene Arten darstellten: Bac. lactis innocuus Wilde, Bact. coli, Bact. fluorescens, Micrococcus pyogenes und ein auf sämtlichen Nährböden außerst kümmerlich wachsender, sporenbildender Bacillus, der nicht identifiziert werden konnte, als offenbar degenerierte Form aber auch keinen besonderen Namen verdient, und deshalb mit dem Signum α bezeichnet wurde. Bei der Reinigung der Azotobacter-Kulturen wurde noch ein Dematium pullulans sowie eine Torula-Form isoliert, die auf Mannitagar sowohl in dem Aussehen der Kolonieen wie auch im mikroskopischen Verhalten dem Azotobacter außerordentlich ähnlich erschienen. Nach längerer Zeit waren allerdings die Dematium-Kolonieen an zahlreichen, kräftigen, wurzelartigen Ausläufern deutlich kenntlich. Für die Torula war das Vorhandensein einer sehr starken Schleimhülle im mikroskopischen Bilde charakteristisch. Soviel mir bekannt ist, hat bisher nur Beijerinck[3]) des mit Azotobacter vereint auftretenden und ihm sehr ähnelnden Dematium Erwähnung getan. Es ist nicht unmöglich, daß es für die Schwarzfärbung der Azotobacter-Kulturen nicht bedeutungslos ist. Wenigstens konnten wir an einwandfreien Reinkulturen dieser Art nie den für die Rohkulturen so charakteristischen Farbenwechsel wahrnehmen. Das Dematium geht dagegen, auf Mannitagar gezüchtet, ziemlich rasch von Weiß in Dunkelbraungrün bis Schwarz über. Die Reinkulturen sind, wie gesagt, durch die zahlreichen Ausläufer, die sich tief in das Agar hinein erstrecken, ausgezeichnet. An

1) Vgl. l. c. Bd. XIV. p. 584.
2) Vgl. Löhnis, l. c. Bd. XVIII. p. 118.
3) Beijerinck, l. c. Bd. VII. p. 577.

Mischkulturen von Azotobacter und Dematium war dagegen wohl die Schwarzfärbung, nicht aber das Auftreten von Ausläufern zu konstatieren. Es soll danach zwar nicht behauptet werden, daß die bisher für Azotobacter-Reinkulturen angegebenen Verfärbungen auf Verunreinigungen zurückzuführen sind, obwohl z. B. das weitgehende Farbenspiel, von dem Heinze[1]) berichtet, wohl geeignet ist, einige Bedenken wachzurufen. Wir wollen hier vorläufig nur hervorheben, daß sich bei uns die Reinkulturen nie verfärbten, daß dies in Mischkulturen von Azotobacter und Dematium dagegen der Fall ist, und daß drittens Dematium sich im mikroskopischen Bilde von Azotobacter nur sehr schwierig unterscheiden läßt und seine Kolonieen erst dann, wenn sie beginnen, Ausläufer zu bilden, deutlich differieren.

Wie dies auch von anderen Autoren[2]) konstatiert wurde, ließ sich übrigens Azotobacter aus der Rohkulturdecke nicht ohne weiteres isolieren. Stets war er begleitet von jenen kleinen, teils beweglichen, teils unbeweglichen Stäbchen, die infolge der Beschwerden, die sie Thiele bereiteten, von diesem zur Führung des Namens Bacillus molestus verurteilt wurden. Keding haben sie sogar so „molestiert", daß er sich veranlaßt fühlte, ihren Namen in Bact. moleste (statt molestum) zu verwandeln. Auch A. Koch[3]) spricht von einem B. moleste. Thiele meint, daß niemand vor ihm von diesen Stäbchen gesprochen habe; das dürfte indessen ein Irrtum sein. Denn wenn auch Thiele, trotzdem er schon vor längerer Zeit den Namen festlegte, bisher eine ausführliche Beschreibung seines Bac. molestus nicht hat folgen lassen, so kann doch kein Zweifel daran bestehen, daß die bewegliche, auf Fleischnährböden nur sehr schwach wachsende Form, mit der er es zu tun hatte, nichts anderes ist als Bac. radiobacter, über den Beijerinck und van Delden[4]) schon 1903 einige Angaben machten, den ich[5]) dann 1905 ausführlich beschrieb und der Gruppe des Bact. pneumoniae zuordnete. Auch von den der Grundform dieser Gruppe näherstehenden Formen erhält man ganz regelmäßig teils gärende, teils nicht gärende Vertreter als Verunreinigung der Azotobacter-Kulturen, wenn man das Impfmaterial der Kahmhaut in den Anhäufungsversuchen entnimmt. Es dürfte deshalb zweckmäßig sein, um so mehr als die Bakteriensystematik ohnehin an unzulänglich beschriebenen aber trotzdem besonders benannten Arten schon allzu reich ist, die Sonderbezeichnung Bacillus molestus zu eliminieren, mindestens so lange bis Thiele einwandfrei nachgewiesen hat, daß es sich bei seiner Art wirklich um eine besondere Species gehandelt hat.

S. und H. Krzemieniewski[6]) teilten im Hinblick auf Thieles Mißgeschick mit, daß man dann unschwer zu Azotobacter-Reinkulturen gelange, wenn man das Impfmaterial nicht zu jungen Kulturen entnähme. Indessen ist nach unseren Erfahrungen auch hier der Erfolg, so lange die Kahmhaut erhalten bleibt, sehr zweifelhaft. Ohne jede Schwierigkeit sind wir dagegen stets dann zu Reinkulturen gelangt, wenn das Ausgangsmaterial solchen Kolben entstammte, in denen nur die

1) Heinze, l. c. Bd. X. p. 672.

2) Lehmann und Neumann, Diagnostik. 3. Aufl. p. 395; Thiele, Landw. Versuchstat. Bd. LXIII. 1906. p. 170; Keding, l. c. p. 291.

3) Koch, l. c. p. 377.

4) Beijerinck und van Delden, l. c. Bd. IX. p. 9.

5) Löhnis, l. c. Bd. XIV. p. 586.

6) Krzemieniewski, l. c. p. 573.

Lösung stark getrübt, aber nicht von einer zusammenhängenden Decke überzogen war. Entwickelt sich im Anhäufungsversuch zunächst eine kräftige Haut, so braucht man nur von da zunächst in die Beijerinck-sche Mannitlösung (Leitungswasser + 2 Proz. Mannit + 0,05 Proz. K_2HPO_4) überzuimpfen und später aus der stark getrübten Flüssigkeit das Material auf die Platte zu bringen, um rasch zu einwandfreien Reinkulturen zu gelangen.

Die stete Gegenwart der Angehörigen der Pneumoniegruppe in der Mannitlösung ist entschieden sehr beachtenswert, um so mehr, als es sich hier in der Regel nicht um bedeutungslose Begleiterscheinungen, sondern um ziemlich kräftige Stickstoffassimilanten zu handeln pflegt. Daß im vorliegenden Falle Radiobacter nicht isoliert wurde, dürfte wohl nur als Zufallsergebnis zu registrieren sein, denn seine Kolonieen ähneln denjenigen anderer Formen aus der Pneumoniegruppe so sehr, daß sie beim Abimpfen leicht ausgelassen werden können. Bact. coli und fluorescens scheinen gleichfalls nahezu regelmäßig in der Mannitlösung aufzutreten; Micrococcus pyogenes wurde dagegen wohl noch nicht in Azotobacter-Anhäufungsversuchen gefunden. Bei seiner allgemeinen Verbreitung kann sein Vorkommen nicht überraschen. Wie aus den sogleich mitzuteilenden Analysenzahlen hervorgeht, ist er übrigens, ebenso wie Bact. coli und fluorescens, nicht oder kaum zur Stickstoffbindung befähigt.

Die aus der Rohrzuckerlösung beimpften Platten ähnelten, abgesehen vom Fehlen der Azotobacter-Kolonieen, in ihrem Aussehen den Mannitagarplatten sehr. Wie dort waren auch hier die beiden Kolonietypen scharf zu unterscheiden. Es wurden wiederum 2 Uebergangsformen von Bact. pneumoniae zu aërogenes isoliert und neben dem auch in der Mannitlösung gefundenen Bac. α ein ebenso kümmerlich wachsender Bac. β, der sich von jenem namentlich durch die Form der sporulierenden Stäbchen unterschied, dort vorwiegend Plektridien-, hier meist Clostridienformen. — Die nach Burris Anaërobenmethode angelegten Kulturen lieferten mehrere stark gasbildende Stämme, die sich als fakultativ anaërob und identisch mit Bact. pneumoniae (aërogenes) erwiesen.

Das Stickstoffbindungsvermögen der Reinkulturen wurde durch Einimpfung in phosphathaltiges, 1-proz. Mannit- bezw. Rohrzucker-Bodenextrakt (je nach der Herkunft des betreffenden Stammes) festgestellt. Vergleichsweise wurden auch einige der aus den Jahren 1904 und 1905 stammenden Sammlungskulturen, die seither auf Mannitagar fortgezüchtet waren, einer entsprechenden Prüfung unterzogen. Die Hälfte der Versuchskolben erhielt eine Zugabe von 1,5 Prom. $CaCO_3$. Am Schluß der 3-wöchigen Versuchsdauer wurde der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl ermittelt. Die sterilen Lösungen enthielten mit $CaCO_3$ 2,24, ohne $CaCO_3$ 2,14 mg Stickstoff in 100 ccm. Die in den beimpften Kolben sich ergebenden Stickstoffgewinne waren die folgenden (Milligramm N pro 100 ccm):

(Siehe Tabelle p. 799.)

Die verschiedenen Pneumonie-Stämme haben sich auch in diesem Falle als ebenso kräftige Stickstoffassimilanten erwiesen, wie der geprüfte Azotobacter-Stamm. Nur bei diesen zur Säurebildung neigenden Formen hat der $CaCO_3$-Zusatz förderlich gewirkt. Während die beiden dem Bac. No. 41 Conn entsprechenden Stämme ebenfalls recht kräftig assimilierten, tat dies die mit Bac. lactis innocuus Wilde identische

	Lösung	$CaCO_3$	N		Lösung	$CaCO_3$	N
Azotobacter chroococcum	Mannit	+	1,96	Bac. α (Mannit)	Mannit	+	0,00
	”	—	1,82		”	—	0,06
Bact. pneumoniae (aërogenes), Stamm I	”	+	1,96	Bact. pneumoniae (aërogenes) Stamm III	Rohrzucker	+	2,10
	”	—	1,50		”	—	1,40
Bact. pneumoniae (aërogenes), Stamm II	”	+	1,82	Bact. pneumoniae (aërogenes) Stamm IV	”	+	1,96
	”	—	1,36		”	—	1,54
Bac. No. 41 Conn, Stamm I	”	+	1,22	Bac. α (Rohrzucker)	”	+	—0,10
	”	—	1,22		”	—	+0,07
Bac. No. 41 Conn, Stamm II	”	+	1,44	Bac. β	”	+	0,02
	”	—	1,36		”	—	0,19
Dematium pullulans	”	+	0,42				
	”	—	0,52	Sammlungskulturen:			
Torula spec.	”	+	0,28	Azotobacter chroococcum	Mannit	+	0,42
	”	—	0,24		”	—	0,52
Bac. lactis innocuus Wilde	”	+	0,06	Bact. pneumoniae	”	+	1,40
	”	—	0,10		”	—	1,36
Bact. coli	”	+	—0,02	Bact. radiobacter	”	+	0,98
	”	—	+0,16		”	—	0,94
Bact. fluorescens	”	+	—0,10	Bact. lactis viscosum	”	+	0,70
	”	—	+0,07		”	—	0,66
Microc. pyogenes	”	+	0,18	Rotkleebakterien	”	+	0,42
	”	—	0,14		”	—	0,38

Form nicht. Diese Differenz entspricht durchaus dem oben mitgeteilten ungleichen Verhalten der Kolonieen auf der Platte. Die übrigen auf Mannit- bezw. Rohrzuckeragar nur dürftig wachsenden Arten (Bact. coli, fluorescens, Bac. α und β) waren gleichfalls nicht oder (wie Microc. pyogenes) kaum zur Stickstoffbindung befähigt. Im Zweifel bleibt man auch noch bei der isolierten Torula, während Dematium pullulans schwach aber deutlich Stickstoff fixiert hat. Von den Sammlungskulturen haben nur Azotobacter sowie die Knöllchenbakterien im Laufe der Jahre eine Einbuße an ihrem Stickstoffbindungsvermögen erlitten, dagegen ist dasselbe durchaus nicht zurückgegangen bei den verschiedenen Formen aus der Gruppe des Bact. pneumoniae.

Leipzig, Januar 1908.

Ueber die Zersetzung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk.

Von **A. Stutzer.**

Eine Bemerkung auf p. 323 in Bd. XX dieses Centralblattes von E. Löhnis und A. Sabaschnikoff veranlaßt mich zu einer kurzen Richtigstellung. In Bd. LXV der „Landw. Vers.-Stat.“ hatte ich in einem Berichte über die Düngewirkung des Kalkstickstoffes ganz beiläufig die Ansicht ausgesprochen, daß die im Ackerboden stattfindende Um-

wandlung des Kalkstickstoffes in Ammoniak vorzugsweise durch einen chemischen Vorgang stattfinde, aber es könnten auch (nach den ausdrücklich von mir erwähnten Versuchen von Löhnis und Behrens) Bakterien die Umsetzung veranlassen. — Der Umstand, daß ich die Bakterientätigkeit nicht an erster Stelle hervorhob, veranlaßt die Genannten, meine angeblich „neuere“ Annahme in schroffster Weise zu kritisieren.

Ich bemerke, daß ich meine Düngungsversuche im Jahre 1903 begonnen und 1905 beendet habe, dann ist jener Artikel geschrieben; er wurde aber (gemeinsam mit anderen Arbeiten) erst 1906 (und nicht, wie Löhnis angibt, 1907) veröffentlicht. In unserer sehr schnelllebigen Zeit, in welcher die Ansichten über die Tätigkeit gewisser Bodenbakterien oft wechseln, können neuere Untersuchungen eine ältere Meinung ändern. So auch hier. Ich habe selbst über die Bakterienwirkung keine Versuche gemacht, aber ich zweifle nach den bisherigen Forschungen keineswegs an der hervorragenden, vielleicht ausschließlichen Wirkung der Bakterien bei der Bildung von Ammoniak aus Kalkstickstoff im Ackerboden, und habe ich im Jahre 1907 und auch in der neuesten Zeit wiederholt Anlaß genommen, diese Meinung in Wort und Schrift zum Ausdruck zu bringen und darauf hinzuweisen, daß man den Kalkstickstoff nur in einem „tätigen“ Boden gebrauchen soll.

Leider ist es in neuerer Zeit vielfach üblich geworden, sachliche Einwendungen in einer zu schroffen Weise zum Ausdruck zu bringen. So auch hier. Durch einen vorherigen schriftlichen Meinungsaustausch mit dem vermeintlichen Gegner einer Ansicht würde manche Schroffheit im Interesse der Sache, der dabei beteiligten Personen und der Leser der Zeitschrift vermieden werden können.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 3. April 1908.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XX enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

IV. Neue Literatur.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3281